

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple-Un But-Une Foi

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO



FACULTE DE PHARMACIE



Année universitaire 2020-2021

N.....

Effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouelessebougou, Mali.

THESE :

*Présentée et soutenue publiquement, le 18 /08/ 2021
Devant la Faculté de Pharmacie*

PAR :

M. Simballa FOFANA

Pour l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

JURY :

Président du jury : Pr Boubacar TRAORE

Membres : Dr Charles ARAMA

Dr Souleymane DAMA

Co-directeur : Dr Oumar ATTAHER

Directeur : Pr Alassane DICKO

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2019-2020

ADMINISTRATION

DOYEN : M. Boubacar TRAORE -Professeur

VICE-DOYEN : M. Sékou BAH - Professeur

SECRETAIRE PRINCIPAL : M. Seydou COULIBALY Administrateur principal

AGENT COMPTABLE : M. Ismaël CISSE, Contrôleur des Finances.

PROFESSEURS HONORAIRES

M. Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
M. Mahamadou	CISSE	Biologie
M. Daouda	DIALLO	Chimie générale & minérale
M. Souleymane	DIALLO	Bactériologie- Virologie
M. Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
M. Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
M. Boulkassoum	HAIDARA	Législation
M. Moussa	HARAMA	Chimie organique (décédé)
M. Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
M. Alou A	KEITA	Galénique
M. Mamadou	KONE	Physiologie
M. Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
M. Brehima	KOUMARE	Bactériologie/Virologie
M. Abdourahamane S.	MAIGA	Parasitologie
M. Elimane	MARIKO	Pharmacologie

DER DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

M. Mounirou	BABY	Hématologie
M. Bakary M.	CISSE	Biochimie
M. Abdoulaye	DABO	Biologie/parasitologie
M. Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
M. Alassane	DICKO	Santé Publique
M. Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
M. Akory Ag	IKNANE	Santé Publique/Nutrition
M. Ousmane	KOITA	Biologie-Moléculaire

Effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouessèbougou, Mali.

M. Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie
-------------	--------	-------------------------

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

M. Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
M. Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie-Mycologie
M. Aldjouma	GUINDO	Hématologie
M. Bourèma	KOURIBA	Immunologie Chef de DER
M. Ousmane	TOURE	Santé Publique/Santé environnement

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

M. Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-virologie
M. Charles	ARAMA	Immunologie
M. Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie clinique
M. Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie clinique
M. Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie clinique
M. Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
M. Souleymane	DAMA	Parasitologie-Mycologie
Mme Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie moléculaire
M. Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
M. Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
M. Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
M.Yaya	GOITA	Biochimie clinique
M. Ibrehima	GUINDO	Bactériologie virologie
Mme Aminatou	KONE	Biologie moléculaire
M. Kassoum	KAENTAO	Santé Publique/Bio statistiques
M. Birama Apho	LY	Santé publique
Mme. Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
M. Issaka	SAGARA	Santé Publique/Bio statistiques
M. Samba Adama	SANGARE	Bactériologie
Mme Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé communautaire
M. Mahamadou Soumana	SISSOKO	Santé Publique/Bio statistiques

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

Mme Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
-------------	-----------	----------------------

Effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouelessebougu, Mali.

M. Issa	DIARRA	Immunologie
M. Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique-Biologie végétale
Mme Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
Mme Merepen dit Agnes	GUINDO	Immunologie
M. Oumar	GUINDO	Epidémiologie
M. Falaye	KEITA	Santé publique/Santé environnement
Mme.N'Deye Lallah Nina	KOITA	Nutrition
M. yacouba	MAIGA	Bio statistique
M. Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
M. Oumar	SANGHO	Epidémiologie
M. Djakaridia	TRAORE	Hématologie

DER DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS/ DIRECTEUR DE RECHERCHE

M. Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
M. Saibou	MAIGA	Législation
Mme Rokia	SANOGO	Pharmacognosie Chef de DER

2. MAITRE DE CONFERENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

Néant - -

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

M. Loséni	BENGALY	Pharmacie Hospitalière
M. Bakary Moussa	CISSE	Galénique
M. Yaya	COULIBALY	Législation
M. Issa	COULIBALY	Gestion
M. Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie hospitalière
M. Hamma Boubacar	MAIGA	Galénique
M. Moussa	SANOGO	Gestion
Mme Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

M. Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion pharmaceutique
M. Antoine	DARA	Sciences pharmaceutiques
M. Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
M. Adama	DENOU	Pharmacognosie

Effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouelessebougou, Mali.

M. Sekou	DOUMBIA	Pharmacognosie
M. Mahamane	HAIDARA	Pharmacognosie
Mme. Assitan	KALOGA	Législation
M. Ahmed	MAIGA	Législation
Mme. Aichata Ben Adam	MARIKO	Galénique
M. Aboubacar	SANGHO	Législation
M. Bourama	TRAORE	Législation
M. Karim	TRAORE	Sciences pharmaceutiques
M. Sylvestre	TRAORE	Gestion pharmaceutique
Mme. Aminata Tiéba	TRAORE	Pharmacie hospitalière
M. Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie hospitalière

DER DES SCIENCES DU MEDICAMENT

1. PROFESSEURS / DIRECTEUR DE RECHERCHE

M. Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
M. Ababacar I.	MAIGA	Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

M. Sékou	BAH	Pharmacologie Chef de DER
----------	-----	----------------------------------

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

M. Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie chimique
M. Mody	CISSE	Chimie thérapeutique
M. Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
M. Tidiane	DIALLO	Toxicologie
M. Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

M. Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
M. Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie analytique
M. Blaise	DACKOUCO	Chimie Analytique
Mme. Fatoumata	DAOUCO	Pharmacologie
M. Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
M. Abdourahamane	DIARA	Toxicologie
M. Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
M. Madani	MARIKO	Chimie Analytique

Effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouelessebougou, Mali.

M. Mohamed El Béchir	NACO	Chimie Analytique
M. Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
M. Dougoutigui	TANGARA	Chimie Analytique

DER SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS / DIRECTEUR DE RECHERCHE

M. Mouctar	DIALLO	Biologie/ Chef de DER
M. Cheik F.	TRAORE	Biologie/Entomologie
M. Mahamadou	TRAORE	Génétique

2. MAITRES DE CONFERENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

M. Lassana	DOUMBIA	Chimie appliquée
------------	---------	------------------

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

M. Abdoulaye	KANTE	Anatomie
M. Boureima	KELLY	Physiologie médicale

4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

M. Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie organique
M. Modibo	DIALLO	Génétique
M. Moussa	KONE	Chimie Organique
M. Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

M. Cheik Oumar	BAGAYOKO	Informatique
M. Babou	BAH	Anatomie
M. Abdourahamane	COULIBALY	Anthropologie médicale
M. Souleymane	COULIBALY	Psychologie
M. Bouba	DIARRA	Bactériologie
M. Modibo	DIARRA	Nutrition
M. Moussa I	DIARRA	Biophysique
M. Babacar	DIOP	Chimie
M. Atimé	DJIMDE	Bromatologie
M. Yaya	KANE	Galénique
M. Boubacar	KANTE	Galénique
M. Aboubacary	MAIGA	Chimie organique
M. Massambou	SACKO	SCMP/SIM

Effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouelessebougou, Mali.

M. Modibo	SANGARE	Anglais
M. Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
Mme. Fatoumata	SOKONA	Hygiène du milieu
M. Fana	TANGARA	Maths
M. Abdel Kader	TRAORE	Pathologie médicales
Mme. Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
M. Boubacar	ZIBEÏROU	Physique



DEDICACES

DEDICACES

Je dédie ce travail :

A Allah : le Miséricordieux, le Très Miséricordieux.

Et à son prophète Mohamed (paix et salut sur lui).

Merci de m'avoir permis de faire ce travail, fruit de beaucoup d'années de courage et de patience.

Prière de m'accorder encore une bonne santé et une longue vie afin que je puisse continuer à apprendre et à servir l'humanité.

Encore merci.

A la mémoire de l'homme, mon précieux offre de Dieu, qui doit de ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père Feu Madala FOFANA.

Vous qui vous êtes battu corps et âme en travaillant à la sueur de votre front pour que moi, mes frères et sœurs n'envions pas les autres. Vous avez été un père courageux, généreux et sociable, chez qui j'ai trouvé la bonne moralité, la rigueur dans l'éducation et le travail, et surtout le service à ceux qui en ont besoin sans attendre quelque chose en retour. Je dédie cet évènement marquant de ma vie en ta mémoire. J'espère que, du monde qui est tien maintenant, tu apprécies cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'un fils qui a toujours prié pour le salut de ton âme. Puisse Dieu, le tout puissant t'accorder le repos éternel. Amen !

A ma mère, Kangué SAGANOKO

Merci Maman pour m'avoir donné la vie, merci pour l'amour maternel, merci pour l'éducation, merci pour ton soutien indéfectible depuis que j'ai vu le jour. Elle a été et continue d'être la femme qui souffre sans me laisser souffrir et qui n'épargne aucun effort pour me rendre heureux. Vos multiples actes de générosités et votre côté social que louent tous ceux qui vous ont connue me comble de fierté ; vous qui avez fait le courage tout le sens de votre vie. Ce travail vous honore en ce jour solennel. Notre seul vœu c'est qu'Allah vous donne longue vie et bonne santé pour continuer de nous couvrir de votre tendresse et de votre gentillesse. Qu'il récompense vos souffrances et Inch'Allah nous ne vous décevrons jamais. Trouvez ici chère mère l'expression de la profonde reconnaissance et de l'amour indéfectible de votre petit garçon chéri. Que Dieu vous accorde longue vie et bonne santé. Amen !

A mon grand frère Lassana FOFANA

Tu as toujours été comme un père pour moi, tu as été du début jusqu'à la fin. Ta bravoure, ton courage et ta détermination font de toi un être exemplaire, merci pour tout ce que tu fais pour moi, puisse Allah le tout puissant te récompenser en multiple et t'accorder une longue vie. Amen !

A mes sœurs Hatoumbou, Kebe, Mariam, Baradji, Heta, Siga et mes frères Lassana, Fousseyne FOFANA

Vous n'aviez pas manqué de m'entourer de la chaleur familiale, je vous en suis reconnaissant. Merci pour vos soutiens, qu'Allah raffermisse d'avantage notre fraternité.

A toute ma famille FOFANA à Kayes

Merci à toutes et à tous, j'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi et réalisé l'un de vos rêves. Que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie, je vous aime !



REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

J'adresse mes sincères remerciements :

A mon cher pays : Le Mali, Tu t'es occupé de mon éducation scolaire depuis le primaire jusqu'à l'université. Merci à toi pays de paix et d'hospitalité. Je prie Dieu de me donner l'opportunité de te rendre fier.

Au Professeur Alassane DICKO et au Docteur Oumar ATTAHER qui ont bien voulu m'accepter dans leur équipe de recherche et de m'avoir proposé et dirigé ce travail.

Au corps professoral et à tous les enseignants de la FMOS et FAPH de l'Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako pour la qualité de l'enseignement reçu.

A mon grand frère Bakary FOFANA et famille à l'Hippodrome²

Mme FOFANA Adama KOMA, Feu Mme FOFANA Mariam DIAKITE, Mme FOFANA Bintou FOFANA, Feu Mme FOFANA Kany TOUNKARA, Moussa FOFANA etc... Il m'est particulièrement difficile de trouver les mots exacts pour vous dire merci. Chacun de vous n'a ménagé aucun effort pour donner le meilleur de lui-même pour que nous puissions parvenir au bout de nos objectifs communs. Merci pour l'accueil chaleureux dont je suis l'objet. Recevez ici toute ma gratitude et mon profond respect.

A tous mes ONCLES et toutes mes TANTES particulièrement **Mahamadou, Karamoko, Amara et Amara (Mina Gorogui) DOUCARA** pour leurs aides et leurs soutiens. Merci pour tous vos soutiens pour que je puisse être là aujourd'hui. Longue vie à vous pour que nous puissions continuer à apprendre de vous.

A toute ma Famille à Kayes

Mâ Danko SIBY, Mâ Sokona BARADJI ; Brahima, Danko Bakary, Mamadou FOFANA, Etc... Je tiens à vous remercier tous pour vos soutiens et vos actes de générosité à mon égard que Dieu vous accorde longue vie.

A la famille SOUKOUNA de Kalaban Coro Sanga

Feu Sirandou FOFANA ; Youssouf, Mamady SOUKOUNA ; Maro, Djeneba TRAORE.

Vous m'aviez toujours considéré comme l'un de vous, merci pour tous les efforts consentis. Recevez ici l'expression de toute ma reconnaissance, soyez rassurés de mon profond attachement.

A mes mamans Aissata SOW (maman de Tenin DIAKITE, ma petite sœur d'une autre mère) et Aminata SOW (maman de Cheick DIALLO, un ami depuis le lycée), Alimata BAGAYOKO (maman de Dr Bakary KONE), Mariam TRAORE (maman de Dr Siriman SAMAKE) ; mes papas Thiémoko KONE (papa de Dr Bakary KONE), Mamadou SAMAKE (papa de Dr Siriman SAMAKE)

Je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous. Vos prières, vos encouragements et vos soutiens m'ont toujours été d'un grand secours, merci à vous pour tout et que DIEU vous accorde longue vie et une santé de fer.

A mon très cher ami Ousmane SACKO

Amis nous le sommes depuis le second cycle, je suis heureux et fier de t'avoir comme ami fidèle parmi les fidèles. Ce travail est le tien, merci infiniment pour tout.

A mon complice, ami, confident et compagnon de tous les jours Dr Siriman SAMAKE

Je n'oublierai jamais les moments difficiles qu'on a franchis ensemble, pendant lesquels tes qualités sont ressorties. Je ne saurais oublier les luttes farouches que nous avons menées nuit et jour pour notre réussite. Les mots me manquent aujourd'hui pour t'apprécier à ta juste valeur, t'es plus qu'une source de motivation pour moi. Continue toujours à être là dans les moments difficiles. Tu sais à quel point ta présence compte à mes yeux. Je sais aussi que tu peux compter sur moi, mon frère de tous les instants. Ce travail est le tien. Je te dis tout simplement merci.

Au Dr Alain Jonathan MAIGA

Homme intègre, merci pour l'hospitalité. Je tiens à te remercier pour tes soutiens et tes actes de générosité à mon égard, que Dieu t'accorde longue vie.

Au Dr Abdourahamane BA

Tu es un guide pour moi, merci pour le soutien, merci pour les conseils, et également merci d'avoir été toujours présent quand le besoin se fut senti.

Au Dr Bakary KONE

Mon très cher ami, camarade de classe depuis la 10^{ème} du lycée, plus qu'un ami tu es un frère et cela jusqu'en classe terminale de la faculté de pharmacie. Je me souviens de nos petites séries d'exercice traitées chez Cheick Diallo au lycée et la lutte pour la 1^{ère} place en classe entre toi et moi n'était emprunte d'animosité mais d'émulation saine. A la faculté de pharmacie nos rapports se sont renforcés. L'un et l'autre on se relayait pour l'achat des polycopies.

Merci d'avoir toujours été présent pour moi. Ce travail est le tien. Je te dis tout simplement merci.

Au Dr Henda DOUCOURE

Merci pour le soutien, les conseils et surtout les anciens documents depuis mon arrivée au sein de la faculté de Pharmacie.

A Mme Mahady MAKALOU

Tu as été comme une mère pour moi au point-g, je tiens à te remercier pour tes soutiens et tes actes de générosité à mon égard.

A Mme Djeneba KONTE

Tu en as beaucoup fait pour moi, merci infiniment pour tes aides et tes actes de générosité à mon égard durant ce parcours.

A Mme Coumba DIAW

Merci pour tes soutiens, tes aides et ton accompagnement pendant ces longues années.

Au Dr Oumar ATTAHER

Les mots me manquent aujourd'hui, car vous avez été pour moi un conseiller, et un maître admirable et que j'admire. Je ne cesserais jamais de vous remercier pour vos soutiens indéterminés et la bienveillance dont vous avez fait preuve à mon égard, je vous dis merci, que le bon Dieu vous aide et remplisse votre vie de succès. Longue vie et santé à vous Docteur !

Au Dr Almahamoudou MAHAMAR

Votre rigueur scientifique, votre disponibilité, et votre souci du travail bien fait ont été d'un grand apport dans la réalisation de ce travail. Je vous remercie du fond du cœur pour les multiples conseils et encouragements reçus. Que Dieu vous bénisse, longue vie et santé à vous Docteur !

Au Dr Kalifa DIARRA

J'ai été ravi d'apprendre auprès de vous cher grand frère. Votre soutien moral, votre gentillesse et vos conseils ne m'ont jamais fait défaut. Ce travail est le vôtre. Que dieu vous accompagne dans vos projets de tous les jours. Amen !

A la Pharmacie WAGUE de Kayes

Dr Aboubakre TEKETE, Dr Aguibou GUINDO, Mr Aliou SY et l'ensemble du personnel.

Merci du fond du cœur de m'avoir initié à l'officine, merci pour les soutiens, vous avez été toujours mes conseillers.

A la Pharmacie M'PEWO

Dr Moussa Almamy COULIBALY, Mr Brehima DEMBELE et l'ensemble du personnel.

Merci pour tous vos soutiens et l'accompagnement.

A mes amis frères et sœurs de la faculté

Dr Arbonacana MAIGA, Dr Alou KEITA, Dr Amadou BASSOUM, Dr Demba COULIBALY, Dr Gouro S CISSE, Dr Madiba SISSOKO, Souleymane KAMISSOKO, Dr Bakaina DIARRA, Hampata DICKO, Gounnedy MAGASSA, Yahaya KEITA, Dr Victor KOUMEDINA, Dr Youssouf DOUMBIA, Dramane DANTE, Mahamadou SIDIBE, Mamadou SABE, Youssouf DOYON, Modibo GOITA, Dr Amadou DIALLO, Mohamed N'DIAYE, Dr Abdoul Ghanhy DICKO, Dr Sidy M KONE, Ichiaka DIARRA, Souleymane B KONTE, Dr Coumba DIARRA, Dr Mariam BAGAYOKO, Etc...

Il me serait difficile de vous citer tous, vous êtes dans mon cœur, affectueusement.

A tous mes camarades de la 11^{ème} promotion du numérus clausus section pharmacie (Promotion Feu Moussa Arama)

Je suis très fier d'appartenir à cette promotion, merci pour le climat d'entente, de gaieté et de compassion mutuelle que nous avons fait prévaloir durant notre cycle. Ensemble Faisons en sorte que notre promotion soit de tous les combats pour rehausser encore davantage la recherche scientifique dans notre cher Mali qui nous a tant donné. Merci mille fois pour ces ambiances studieuses que nous avons entretenues ensemble. Que Dieu nous accorde beaucoup de chances et de réussites à tous dans nos carrières professionnelles respectives.

A la Grande Famille des Rassembleurs, des Secouristes et des Réformateurs (RA.SE.RE), la Diamond Family, l'association des étudiants SONINKE et sympathisants (AESM-FMOS/FAPH), l'AESM SUNPU KAFO, l'association des étudiants ressortissants de KAYES (AERK), la coordination régionale des étudiants en santé de KAYES (CRESKA), l'association des élèves et étudiants ressortissants du cercle de YELIMANE (AEERCY-FMOS/FAPH), l'amicale des étudiants en Pharmacie (AEP MALI), la Jeune Chambre Internationale Mali (particulièrement la Jeune Chambre Internationale Universitaire Bamako Etoile), Havre de Charité et d'abnégation (HCA), les éléments de Best Friends, OG et la Team B1 pour leurs accompagnements et soutiens fraternels durant ce parcours.

Je tiens à vous remercier d'avoir m'inculqué le travail d'équipe.

A l'équipe MRTC de Ouelessebougou

Dr Oumar ATTAHER, Dr Almahamoudou MAHAMAR, Dr Halimatou DIAWARA, Dr Djibrilla Issiaka TOURE, Dr Mamoudou SAMASSEKOU, Dr Seydou TRAORE, Dr Ibrahim SOUMBOUNOU, M. Bakary Soumana DIARRA « BSD », Adama DEMBELE « noss », Sekouba KEITA, Adama SISSOKO, Idrissa SAMAKE, Dr Ahamadou YOUSSEUF, Ichiaka SAMAKE, Seydina Oumar MAGUIRAGA, Ouleymatou N'Diaye etc... Et ***l'équipe d'immunologie à Bamako au Point-g*** (Dr Kalifa DIARRA, Dr Boubacar DEMBELE, Dr Barasse COULIBALY, Kadidia B CISSE, Amara CISSE, Mamoutou YATTOURA, Yaya KEITA, Ibrahim KONE.

Vous m'avez appris davantage le travail en équipe, le travail sous pression mais aussi la joie de tous partagés, le respect des critiques et celui de l'autre.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

**HOMMAGES AUX
MEMBRES DU JURY**

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A NOTRE MAITRE ET PRÉSIDENT DU JURY

PROFESSEUR Boubacar TRAORE

- Professeur Titulaire de Parasitologie-Mycoologie à la FAPH ;
- Doyen de la faculté de pharmacie ;
- Directeur scientifique du laboratoire clinique du MRTC ;
- Responsable de l'unité Paludisme/Grossesse et Immuno-pathologie du Département d'Epidémiologie des Affection Parasitaires.

Cher maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations.

Votre simplicité, votre modestie, votre rigueur scientifique et votre dévouement pour le travail bien fait font de vous un maître exemplaire, de renommé international et de surcroit, apprécié de tous.

Recevez cher maître, notre profond respect et toute notre reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

DOCTEUR Charles ARAMA

- **Docteur en Pharmacie ;**
- **Master en Immunologie ;**
- **PhD en Immunologie ;**
- **Maitre-Assistant à la Faculté de Pharmacie ;**
- **Chercheur à l'unité Moléculaire au MRCT/DEAP.**

Cher Maître,

Nous avons été impressionnés par la promptitude et la modestie avec lesquelles vous avez accepté de juger ce travail malgré vos multiples occupations.

Votre sympathie, votre disponibilité inconditionnelle et votre courtoisie nous ont été très bénéfiques pour mener à bien ce travail.

Recevez par ce travail l'expression de notre admiration et de notre profonde gratitude.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

DOCTEUR Souleymane DAMA

- **Maitre-assistant en Parasitologie-Mycologie**
- **PhD en Parasitologie-Mycologie**
- **Master en Parasitologie-Entomologie médicales**
- **Master en pharmacologie préclinique**
- **Chercheur au MRTC/DEAP**

Cher maître,

Nous vous remercions vivement de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Votre compétence, votre dynamisme, ainsi que vos qualités humaines et professionnelles exemplaires ont toujours suscité notre admiration. Qu'il soit permis, cher maître, de vous exprimer notre sincère reconnaissance, notre profond respect et notre plus grande estime.

A NOTRE MAÎTRE ET CO-DIRECTEUR DE THÈSE

DOCTEUR Oumar ATTAHER

- **Pharmacien chercheur au MRTC ;**
- **DES en biologie clinique ;**
- **Doctorant en PhD.**

Cher Maître,

C'est un grand honneur pour nous, que vous ayez accepté de codiriger ce travail de thèse.

Votre amour du travail bien fait, votre rigueur scientifique, vos remarques et suggestions ont été d'un apport inestimable pour la réalisation de ce document. Nous avons apprécié vos qualités humaines, sociales et scientifiques tout au long de ce travail.

Votre sens élevé du travail bien fait, votre disponibilité constante et surtout votre humanisme font de vous un maître respecté et admiré.

Trouvez ici, cher maître toute notre admiration ainsi que notre profond respect et attachement indéfectible.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

PROFESSEUR ALASSANE DICKO

- **Professeur titulaire en épidémiologie et santé publique ;**
- **Responsable du centre de recherche de Ouelessebougou ;**
- **Chef de l'Unité épidémiologie, Biostatistique et gestion des données au MRTC, Faculté de pharmacie, Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie ;**
- **Directeur de programme de recherche à la Faculté de pharmacie et à la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie.**

Cher maitre,

Vous nous avez fait un immense honneur en nous acceptant dans votre équipe de recherche. Nous vous remercions de la confiance que vous nous avez placée en nous proposant ce travail.

Tout au long de ce travail nous avons apprécié vos grandes qualités scientifiques et humaines, vos enseignements et surtout votre sens élevé de la responsabilité et de la rigueur dans le travail. Vous nous avez cultivé l'esprit d'équipe, l'endurance, la persévérance, le travail bien fait et surtout la patience.

Que ce travail soit pour nous, le moyen de vous exprimer une fois de plus notre haute considération et indéfectible attachement.



SOMMAIRE

Table des matières

1. INTRODUCTION	1
2. OBJECTIFS.....	4
2.1. Objectif général :.....	4
2.2. Objectifs spécifiques :	4
3. GENERALITES	5
3.1. Paludisme	5
3.1.1. Définition	5
3.1.2. Vecteur.....	5
3.1.3. Agents pathogènes	5
3.1.4. Cycle biologique du Plasmodium	10
3.1.5. Historique du paludisme	12
3.1.6. Répartition géographique.....	13
3.2. Immunologie du paludisme :.....	15
3.2.1. L'immunité innée :.....	15
3.2.2. L'immunité acquise :	19
3.3. Les lymphocytes T :.....	22
3.3.1. Morphologie :	22
3.3.2. Types de lymphocytes T :.....	24
3.4. Les lymphocytes T mémoire :.....	26
3.4.1. Les sous-population de lymphocyte T mémoire :.....	27
3.5. Les marqueurs phénotypiques :.....	29
3.6. Vaccination anti-palustre :	30
3.6.1. Les différents types de candidats vaccin :	30
3.6.2. Développement clinique d'un vaccin antipaludique :	32
3.6.3. Les vaccins antipaludiques en cours d'étude :.....	34
3.6.4. Les adjuvants vaccinaux :	35
3.7. Le Produit de l'étude :	39
4. METHODOLOGIE :	40
4.1. Lieu d'étude :	40

Effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouelessebouyou, Mali.

4.1.2. Situation :	40
4.1.3. Population :	40
4.1.4. Activités socio-économiques et culturelles :	40
4.1.5. Climat et hydrographie :	41
4.1.6. Infrastructures et équipements :	41
4.2. Schéma de l'étude :	43
4.3. Période d'étude :	45
4.4. Population d'étude :	45
4.5. Echantillonnage :	45
4.6. Calcul de la taille de l'échantillon :	45
4.7. Recrutement :	46
4.8. Critères d'inclusion :	46
4.9. Critères de non inclusion :	47
4.10. Programme de l'étude :	49
4.10.1. Dépistage :	49
4.10.2. Affectation des groupes :	50
4.11. Procédures d'étude / évaluations :	51
4.11.1. Tests de Laboratoire cliniques :	51
4.11.2. Diagnostic du paludisme :	52
5. RESULTATS.....	57
5.1. Les caractéristiques de base :	57
5.2.1. Répartition des participants selon le sexe et le groupe de traitement :	57
5.2.2. Répartition des participants selon l'âge et le groupe de traitement :	58
5.2. Les lymphocytes T mémoires :	59
6. COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS.....	64
7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS :	68
7.1. Conclusion :	68
7.2. Recommandations :	68
8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :	69
9. ANNEXE.....	79



LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac : Anticorps

ADCI : Antibody Dependant Cell-mediated Inhibition

ADN : Acide désoxyribonucléique

AMA1 : Apical Membrane Antigen 1

ARN : Acide ribonucléique/ ribonucleic acid

AS01 : Adjuvant System 01

BCR : B-cell Receptor

BNDA : Banque Nationale de Développement Agricole du Mali

BV421 : Brillant violet 421

CDs : Cellules dendritiques

CD4 : Marqueur de différenciation 4

CD27 : Marqueur de différenciation 27

CD40 : Marqueur de différenciation 40

CD154 : Marqueur de différenciation 154

CPG 7909: Cytosine phosphorothioate et Guanine

CP : Chimio prophylaxie

GPI : Glycosyl Phosphatidyl Inositol

CPN : Consultation Prénatale

CPS : Chimio prévention du Paludisme Saisonnier

CSCoM : Centre de Santé Communautaire

CSP : Circum Sporozoïte Protein

CSRéf : Centre de Santé de Référence

CPA : Cellules Présentatrice d'Antigène

CXCR5 : Récepteur de Chimiochine C-X-C de type 5

CXCR7 : Récepteur de Chimiochine C-X-C de type 7

DEAP : Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires

EDCTP : European Developing Country Clinical Trial Partnership

EDM : Energie du Mali

EDSM : Enquête Démographique et de Santé du Mali

EDTA : Ethylène Diamine Tétracétique

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

EMA : Agence Européenne des Médicaments

EPA : ExoProtein A

Fab : Fragment antigen binding

FITC : Isothiocyanate de fluorescéines

FMPOS : Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

GE : Gouttes épaisses

GLURP : Protéine riche en Glutamine

GM-CSF : Facteur stimulant les colonies de granulocytes et de macrophages

GSK : GlaxoSmithKline

G6PD: Glucose-6 Phosphate Déshydrogénase

HbF : Hémoglobine Fœtale

Hbc : Hémoglobine C

Hbs: Hémoglobine S

HBsAg : Antigène de surface de l'Hépatite/hepatitis B surface antigen

HLA : Human Leucocyte Antigen

HRP- 1 : Histidine-Rich Protein-1

HSA : Human serum albumin

IFN- γ : Interféron gamma

Ig : Immunoglobuline

IgA : Immunoglobuline de type A

IgD : Immunoglobuline de type D

IgG : Immunoglobuline de type G

IgM : Immunoglobuline de type M

IL : Interleukine

IL-4 : Interleukine 4

IL-21 : Interleukine 21

IM : Intramusculaire

LMIV : Laboratory of Malaria Immunology ET Vaccinology

LPS : Lipopolysaccharide

LSA1 : Liver Stage specific Antigen 1

MA : Macrophage

MILD : Moustiquaires Imprégnées d'Insecticide longue Durée

MLB : Mannose Binding Lectines

MPL : Monophosphoryl lipide A

MRTC: Malaria Research and Training Center

MSP : Mérozoïtes Surface Protein

MSP-1 : Mérozoïte Surface Protein 1

NIAID : National Institute of Allergy and Infectious Diseases

NIH : National Institutes of Health

NK : Cellule tueuse naturelle

NKT : Natural killer T cells

NO : Monoxyde d'azote

OHVN : Office de la Haute Vallée du Niger

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P.f : *Plasmodium falciparum*

PBS : Phosphate Buffer Saline

PCR : Réaction en chaîne de polymérase

PfEMP1 : Plasmodium falciparum érythrocyte membrane protein-1

PfSPZ : Plasmodium falciparum sporozoïte

PID : Pulvérisation Intra Domiciliaire

PNB : Produit National Brut

PNLP : Programme National de Lutte contre le Paludisme du Mali

PRODESS : Programme de Développement Sanitaire et Social

QBC : Quantitative Buffy Coat

QS-21 : Quillaja saponaria 21

QT : Temps de Quick

RAP- 2 : Roptry Associated Protein-2

RESA : Rosetting Erythrocyte Surface Antigen

RNA : Acide ribonucléique

RTS, S : Fusion protéique entre l'antigène circumsporozoïte protéine de *Plasmodium falciparum* et HbsAg (Antigène de surface du virus de l'hépatite B)

SALSA : Sporozoïte And Liver Stage Antigen

SERA : Serine repeat Antigen

SOTELMA : Société de Télécommunication du Mali

SST : Serum Separator Tube

STARP : Sporozoite Threonine and Asparagine Rich Protein

TBV: Vaccin bloquant la transmission/transmission blocking vaccine

TCR : Récepteur du lymphocyte T

Th : T Helper

Th1 : Voie Th1

Th2 : Voie Th2

Th17 : Voie Th17

TLR : Recepteur des Lymphocytes T

TLR9 : Toll-like receptors

TNF : Facteur de nécrose tumorale

TPI : Traitement Préventif Intermittent

TRAP : Thrombospondin Related Adhesion Protein

T reg : Cellules T régulatrices

T $\gamma\delta$: Lymphocyte T gamma delta

USA : United States of America

USTTB : Université des Sciences, Techniques & Technologies de Bamako /University of Sciences, Techniques & Technologies of Bamako

VHB : Virus de l'Hépatite B

VHC : Virus de l'Hépatite C

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

LISTE DES UNITES ET SYMBOLES

% : Pourcentage

> : Supérieur

m : Mettre

< : Inferieur

mm : millimètre

µl : microlitre

ml : millilitre

= : égale

°C : degré Celsius



LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1: PLASMODIUM A DIVERS STADES, ASPECTS SUR FROTTIS MINCE.....	9
FIGURE 2: CYCLE DU DEVELOPPEMENT DU PLASMODIUM AVEC LES DIFFERENTS CANDIDATS VACCINS.	12
FIGURE 3: CARTOGRAPHIE DE LA REPARTITION GEOGRAPHIQUE DU PALUDISME DANS LE MONDE.....	14
FIGURE 4: REPOSE IMMUNITAIRE INNEE ET ADAPTATIVE.	21
FIGURE 5: STRUCTURE DU LYMPHOCYTE T.	23
FIGURE 6: VOIES DE DIFFERENCIATION DES LT CD4+ NAÏFS. ZOU ET AL NATURE REVIEWS IMMUNOLOGY 2010.....	25
FIGURE 7: INDUCTION VACCINALE DES CELLULES T MEMOIRE CHEZ L'HOMME.	28
FIGURE 8: LES DIFFERENTS VACCINS ANTIPALUDIQUE EN COURS D'ETUDE. ..	35
FIGURE 9: CARTE DU MALI MONTRANT OUELESSEBOUGOU.	43
FIGURE 10: SCHEMA DE L'ETUDE.	44
FIGURE 11: STRATEGIE D'ANALYSE D'EXPRESSION DES CELLULES T-CD8+, T-CD4+.	55
FIGURE 12: BD LSR FORTESSA X-20, SPECIAL ORDER RESEARCH PRODUCT.....	56
FIGURE 13: LES LYMPHOCYTES T MEMOIRES AVANT LE BOOSTER SELON LE REGIME DE VACCINATION.	59
FIGURE 14: LES LYMPHOCYTES T CD4 MEMOIRES.....	60
FIGURE 15: VARIATION DES NIVEAUX DE LYMPHOCYTES T CD4 MEMOIRES. ..	60
FIGURE 16: LES LYMPHOCYTES T CD8 MEMOIRES.....	61
FIGURE 17: VARIATION DES NIVEAUX DE LYMPHOCYTES T CD8 MEMOIRES ...	61
FIGURE 18: LES LYMPHOCYTES T CD4 MEMOIRES CHEZ LES SUJETS VACCINES SELON LE REGIME LONG (BRAS1).....	62
FIGURE 19: LES LYMPHOCYTES T CD8 MEMOIRES CHEZ LES SUJETS VACCINES SELON LE REGIME LONG (BRAS1).....	62
FIGURE 20: LES LYMPHOCYTES T CD4 MEMOIRES CHEZ LES SUJETS VACCINES SELON LE REGIME COURT (BRAS2).	63
FIGURE 21: LES LYMPHOCYTES T CD8 MEMOIRES CHEZ LES SUJETS VACCINES SELON LE REGIME COURT (BRAS2).	63

LISTE DES TABLEAUX

<i>TABLEAU I: REPARTITION DES PARTICIPANTS SELON LE SEXE ET LE GROUPE DE TRAITEMENT.</i>	57
<i>TABLEAU II: REPARTITION DES PARTICIPANTS SELON L'AGE ET LE GROUPE DE TRAITEMENT.</i>	58



INTRODUCTION

1. INTRODUCTION

Le paludisme demeure un problème majeur de santé publique dans le monde surtout en Afrique subsaharienne. Il touche non seulement la santé de centaines de millions d'individus à travers le monde mais affecte également l'économie des pays endémiques (1). Globalement, on estime à 3,3 milliards le nombre de personnes à risque d'être infectées par le paludisme à travers le monde (2). Le nombre de cas de paludisme a été estimé à 229 millions en 2019 contre 228 millions en 2018 selon le rapport 2020 de l'OMS. Pour la même année le nombre de décès dus au paludisme a été estimé à 409 000 dont plus de 90% en Afrique et plus précisément la région subsaharienne, contre 411 000 en 2018 (3). Les enfants de moins de 5 ans sont les plus vulnérables face au paludisme. En 2018, ils ont représenté 67 % (272 000) des décès associés au paludisme dans le monde (4).

Plasmodium falciparum est l'espèce plasmodiale la plus prévalente dans la région Afrique de l'OMS, elle est en effet à l'origine de 99,7 % des cas de paludisme estimés en 2018, tout comme dans les régions Asie du Sud-Est (50 %), Méditerranée orientale (71 %) et Pacifique occidental (65 %) (4).

Au Mali, en 2017 selon les statistiques sanitaires ainsi que les rapports fournis par les agents de santé communautaire (ASC), le paludisme a constitué 32% des motifs de consultation dont 0,5 % de décès dans la population générale (5). En 2018, un total de 3 572 794 cas suspects a été enregistré. Parmi ces cas suspects 3 457 267 (97%) ont été testés et 2 345 481 (66%) cas testés ont été confirmés (6).

L'utilisation accrue de plusieurs mesures prouvées rentables disponibles pour réduire le paludisme telles que les moustiquaires imprégnées d'insecticide (MII), la pulvérisation intra-domiciliaire à effet rémanent (PID), les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) et le traitement préventif intermittent pendant la grossesse (TPIg) au cours des dix dernières années ont contribué à une diminution du paludisme clinique récemment observé dans de nombreuses régions de l'Afrique subsaharienne (7).

Cependant, malgré les efforts concertés des partenaires, près de 40 % des femmes enceintes ne dormaient pas sous MII en 2018 et les deux tiers n'avaient pas reçu le minimum de trois doses de traitement préventif recommandé (4).

Prise ensemble, ces données soulèvent des inquiétudes quant à l'espoir d'éradiquer le paludisme avec les moyens actuellement disponibles et mettent en évidence le besoin urgent de développer un vaccin efficace pour éliminer le paludisme.

Plusieurs candidats vaccins sont en cours d'essais à travers le monde, parmi ces vaccins figure le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ). Ce vaccin est composé de sporozoïtes aseptiques, métaboliquement actifs, non réplicatifs, purifiés et cryoconservés de *P. falciparum*. Il induit des réponses immunitaires aux stades sporozoïtes et hépatiques du développement du parasite chez l'hôte humain et prévient la progression vers la parasitémie au stade sanguin ainsi que les séquelles de la maladie.

L'administration de cinq doses de $2,7 \times 10^5$ du vaccin PfSPZ chez les adultes au Mali pendant la saison de faible transmission du paludisme avait montré une efficacité de protection de 48 % par analyse temps-événement et une efficacité de 29 % par analyse proportionnelle(8).

La réduction du nombre de vaccinations (de 5 à 3) tout en augmentant la dose de sporozoïtes à chaque vaccination ($2,7 \times 10^5$ à $1,8 \times 10^6$ PfSPZ) avait également montré une efficacité vaccinale similaire de celle de Sissoko *et al* en 2017(9).

L'espoir que la protection stérile contre l'infection du paludisme peut être induite par un vaccin à base d'un organisme entier découle des études démontrant que la vaccination par les piqûres de moustiques infectés avec des sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* (PfSPZ) atténués par irradiation (> 120 Gray unités) dans leurs glandes salivaires peut induire une protection complète de longévité considérable chez la souris et chez l'homme pour une durée allant jusqu'à 10 mois, avec des preuves de protection transcendante liée à la souche (10). L'irradiation des moustiques infectés perturbe l'expression du gène des sporozoïtes, qui restent capables d'invasion des hépatocytes, mais ne sont plus à mesure de compléter la maturation au stade hépatique ou de passer au stade sanguin pathogène (11). L'infection des sujets humains avec des sporozoïtes irradiés les expose ainsi à des antigènes au stade hépatique et génère une immunité pré érythrocytaire. Cependant, l'exigence d'un minimum de 1.000 piqûres de moustiques irradiés pendant 5 ou plusieurs séances de vaccination afin de réussir à induire une immunité stérile chez l'homme empêche cette méthode pour la vaccination de routine(12).

Des études sont en cours pour établir un régime de vaccination, la dose optimale et le calendrier, qui conduiront à une meilleure protection stérile dans les régions endémiques. Les résultats préliminaires d'études plus récentes chez des participants naïfs ou atteints de paludisme ont montré que la dose de $9,0 \times 10^5$ PfSPZ par vaccination (inférieure à $1,8 \times 10^6$ utilisée dans les études ci-dessus) en trois doses peut être une dose optimale pour la vaccination. En outre, il apparaît de plus en plus qu'un traitement condensé, plus pratique peut également conduire au développement d'une immunité stérile.

Le but de notre travail est d'évaluer l'effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouelessebouyou, Mali.



OBJECTIFS

2. OBJECTIFS

2.1. Objectif général :

Evaluer l'effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) durant la saison de transmission naturelle de 2019 sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouelessebougou, Mali.

2.2. Objectifs spécifiques :

- Mesurer et comparer les niveaux des sous populations des lymphocytes T CD4 mémoires avant et après la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) durant la saison de transmission naturelle de 2019 chez les adultes à Ouelessebougou, Mali.
- Mesurer et comparer les niveaux des sous populations des lymphocytes T CD8 mémoires avant et après la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) durant la saison de transmission naturelle de 2019 chez les adultes à Ouelessebougou, Mali.



GENERALITES

3. GENERALITES

3.1. Paludisme

3.1.1. Définition

Le paludisme (Malaria en Anglais) est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante due à la présence et à la multiplication dans le foie puis dans les hématies d'un hématozoaire du genre *Plasmodium*, c'est une maladie infectieuse, propagée par la piqure de certaines espèces de moustiques anophèles.

Il existe aussi d'autres moyens de contaminations que sont les voies sanguines (transfusion sanguine), la transplantation d'organe et la transmission fœto-maternelle (13),(14).

Quatre espèces de *Plasmodium* reconnues infectant habituellement l'homme, *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*. Des cas de paludisme humain à *P. knowlesi* et de *P. cynomolgi*(parasite de singe) ont été rapportés dans certaines zones d'Asie du Sud-est (15).

3.1.2. Vecteur

Le vecteur est un diptère nématocère de la famille des Culicidae. Environ quatre cents espèces d'anophèles ont été répertoriées, seule une quarantaine est capable de transmettre le parasite du paludisme. Les complexes anophèles gambiae comprennent les espèces douées d'une capacité de transmettre le parasite. Elles sont au nombre de sept et trois d'entre elles ont une grande capacité vectorielle : *An. Gambiae s.s*, *An.arabiensis*, *An .fenestus*(16).

Seules les femelles sont hématophages et les protéines sanguines sont nécessaires à la maturation de leurs œufs.

3.1.3. Agents pathogènes

Les parasites responsables de paludisme chez l'homme appartiennent :

Règne : animal

Sous règne : Protozoaires

Phylum : Apicomplexa

Classe : Sporozaea

Sous classe : Coccidia

Ordre : Eucoccidiida

Sous ordre : Haemosporina

Famille : Plasmodiidae

Genre : *Plasmodium* qui renferme deux sous genres :

- Sous genre *Plasmodium* est caractérisé par des gamétocytes arrondis renferme quatre espèces responsables de paludisme chez l'homme ; *P. (p) vivax*, *P. (p) ovale*, *P. (p) malariae* et *P. (p) knowlesi* qui est un parasite que l'on croyait jusqu'à une date récente spécifique aux espèces siemiennes, et qui a été découvert chez l'homme pour la première fois en Malaisie.
- Sous genre *laverania* est caractérisé par des gamétocytes falciformés. Il renferme une seule espèce *P. (L) falciparum* et est l'espèce la plus redoutable pour l'homme(17).

Les différences entre les espèces pathogènes résident au niveau de leur capacité de multiplication durant la phase sanguine, la durée des cycles de schizogonies, la possibilité de séquestration des globules rouges infectés dans la microcirculation vasculaire et de leurs préférences du type de globule rouge pour l'invasion (jeunes, adultes, âgés).

Plasmodium falciparum est endémique essentiellement en zone tropicale : Afrique, Asie du sud-est, Amérique du sud, et Océanie. Il a une période d'incubation hépatique de 7-12 jours. Il provoque une fièvre tierce maligne et donne des formes graves et mortelles dont les atteintes neurologiques(18). Il est capable d'envahir les hématies quelque soit leur âge. Le cycle intra-érythrocytaire dure environ 36-48 heures. La taille des hématies parasitées est quasiment identique à celle des hématies non parasitées. A la microscopie, les parasites jeunes ont une forme en bague à chaton avec un anneau cytoplasmique mince appelés "rings ou anneaux » ; les trophozoïtes âgés ont une forme en bague plus élargie voir déformée. On note des tâches jaune orangé en coup d'ongle à la surface de l'hématie parasitée appelées tâches de Maurer (Macules de formes et de dimensions inégales).

La gamétocytoγένèse dure 9-12 jours et les gamétocytes ont une forme caractéristique en banane avec un diamètre moyen de 10µm à peu près (d'où le nom d'espèce falciparum), un amas central de granulation nucléaire en rouge et de pigments en noir. Les schizontes ont une forme de corps en rosace contenant 16-32 noyaux(19).

Plasmodium vivax est le plus répandu dans le monde. Il sévit en Asie du sud-est, Amérique du sud, Océanie et en Afrique sahélienne et de l'est.

Il a une période d'incubation hépatique de 11-13 jours, il provoque une fièvre tierce bénigne et est responsable de recrudescence grâce aux formes dormantes dans le foie : hypnozoïtes. Dans le sang, il préfère envahir les réticulocytes pour engager une schizogonie de 48 heures. Il provoque la déformation irrégulière et l'augmentation considérable de la taille de la cellule hôte. A la microscopie, les anneaux ont une forme en bague avec un cytoplasme épais et un gros noyau ; les trophozoïtes âgés ont un cytoplasme digité ou fragmenté avec un gros noyau plus ou moins déformé et un pigment noir. On note des granulations de Schüffner dans l'hématie parasitée.

La gamétocytogénèse dure 7-9 jours et les gamétocytes sont arrondis (10-12 µm) avec un cytoplasme bleu pâle ou mauve et de fins pigments noirs dispersés au Giemsa. Les schizontes sont volumineux (10-14µm) avec 12-24 noyaux fins et de pigments noirs fins plus ou moins dispersés(19). Il a longtemps été associé à l'infestation des individus Duffy positif, mais actuellement il a été observé chez des individus Duffy négatif(20).

Plasmodium ovale sévit surtout en zone intertropicale africaine. Des études récentes ont montré l'existence de 2 sous-espèces sympatriques de *P. ovale* (*Plasmodium ovale curtisi* et *Plasmodium ovale wallikeri*)(21), présentes en Afrique et en Asie, non distinguables par la microscopie(22). Il a une période d'incubation hépatique de 15 jours. Il provoque une fièvre tierce bénigne et produit des hypnozoïtes. Il parasite les hématies jeunes pendant 48 heures en leur donnant une forme ovale et les hématies parasitées sont plus grande par rapport aux hématies saines.

A la microscopie, les trophozoïtes jeunes ont une forme en bague avec un anneau cytoplasmique mince ; les trophozoïtes âgés ont une forme régulière avec des granulations et de pigment noir. On note l'apparition précoce des granulations de Schüffner dans l'hématie parasitée (granulations volumineuses).

La gamétocytogénèse est inférieure à 7 jours et les gamétocytes sont arrondis (7-8µm) avec un cytoplasme bleu pâle ou mauve et de fins pigments noirs peu abondants. Les schizontes ont une taille moyenne de 10µm, 8-12 noyaux volumineux et de gros pigments noirs plus ou moins dispersés(19).

Plasmodium malariae est endémique dans les climats tropicaux : Afrique, Asie du sud, Amérique du sud et Océanie. Il a une période d'incubation hépatique de 15-21 jours. Il provoque une fièvre quarte.

Il préfère se développer dans les hématies âgées et la schizogonie intra-érythrocytaire dure environ 72 heures. Il est associé à des faibles parasitémiés inframicroscopiques pouvant durer toute la vie(19).

A la microscopie, les trophozoïtes ont une disposition en plaque équatoriale de la cellule hôte ; les trophozoïtes jeunes ont une forme en bague avec un anneau cytoplasmique épais et un gros noyau ; les trophozoïtes âgés ont une forme en bague très épaisse ou forme en drapeau (rectangulaire) avec un gros pigment noir, les schizontes ont un aspect en rosace avec 12 noyaux(19).

Plasmodium knowlesi est génétiquement proche de *P. vivax*. Mais microscopiquement il peut poser un problème de diagnostic différentiel avec *P. malariae*. Les schizontes comportent 16 noyaux. Il a une période d'incubation hépatique de 5 jours. Il est responsable de fièvre quotidienne avec une schizogonie intra-érythrocytaire de 24 heures(19).

La distribution du paludisme dans les régions endémiques du monde est définie en fonction du degré d'endémicité. Le paludisme est considéré comme endémique dans les zones où il y a une transmission constante au cours d'années successives. Le paludisme est dit hypo-endémique dans les zones où la prévalence de l'infection est inférieure à 10%, et méso-endémique dans les zones où la prévalence de l'infection se situe entre 11% et 50%. Dans les régions où la prévalence de l'infection est supérieure à 50%, les zones sont définies comme hyper-endémiques et holo-endémiques au-delà de 75%(19).

Au Mali, Pr. Doumbo *et al* ; ont décrit en 1992 cinq faciès épidémiologiques de la transmission du paludisme(23) :

- (i) une zone à transmission saisonnière longue de 6 mois ou plus (dans la région de Sikasso avec plus de 1000mm d'eau/an) ;
- (ii) une zone à transmission saisonnière courte de 4 mois ou moins (correspond au Sahel avec une pluviométrie de 600 - 800mm d'eau/an) ;

Effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouesselbougou, Mali.

- (iii) une zone à transmission bimodale (zone de retenue d'eau, riziculture, barrage et delta intérieur du fleuve Niger) ;
- (iv) une zone hypo-endémique peu propice à la transmission (dans les villes) ;
- (v) une zone sans transmission avec des épidémies de paludisme (correspond aux régions saharo-sahéliennes, avec une pluviométrie de moins de 200mm d'eau/an).

Diagnostic du paludisme : *Plasmodium* à divers stades. Aspects sur frottis minces

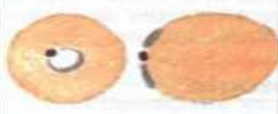
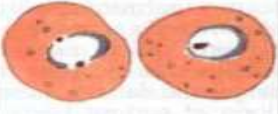
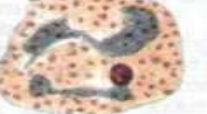
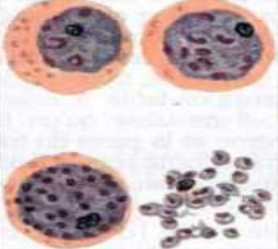
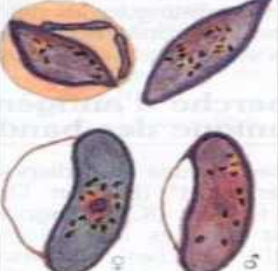
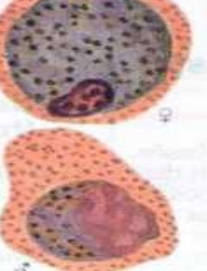
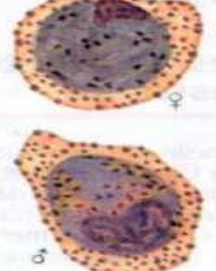
	<i>Plasmodium falciparum</i>	<i>Plasmodium vivax</i>	<i>Plasmodium ovale</i>	<i>Plasmodium malariae</i>
Trophozoïtes jeunes				
Trophozoïtes âgés				
Schizontes rosaces				
Gamétocytes				

FIGURE 1: PLASMODIUM A DIVERS STADES, ASPECTS SUR FROTTIS MINCE.

Source : Développement et Santé | Diagnostic du paludisme.

3.1.4. Cycle biologique du *Plasmodium*

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

Le parasite sous forme de sporozoïte est injecté dans le sang chez l'homme par la piqûre de la femelle de l'anophèle, diptère culicidé et vecteur, à l'occasion d'un repas sanguin. Les sporozoïtes gagnent le système veineux porte qui les véhicule vers le foie en trente minutes – une heure. C'est la schizogonie hépatique.

Des travaux ont montré que certains sporozoïtes restent plus longtemps au niveau des ganglions lymphatiques, constituant un premier point d'interaction avec le système immunitaire de l'hôte(24). Arrivé au niveau du foie, le sporozoïte traverse plusieurs membranes cellulaires y compris celle des cellules de Küpffer et d'autres hépatocytes, pour finalement choisir un hépatocyte dans lequel le développement du parasite se poursuit(25);(26). Une multiplication intense se produit formant un corps bleu. Dans le cas de *P. vivax* et *P. ovale*, certains sporozoïtes restent à l'état latent sous formes dormantes, dénommées hypnozoïtes, responsables des accès de reviviscence à distance. A maturité le corps bleu est lysé et il libère à partir de chaque sporozoïte, 20-30000 mérozoïtes. Ces mérozoïtes sont libérés en paquets sous forme d'amas nommés mérosomes qui circulent dans le sinus hépatique et arrivés au niveau du capillaire extra hépatique, les mérozoïtes individuels sont libérés dans le torrent circulatoire. Chaque mérozoïte va envahir un érythrocyte et entamer le cycle de la schizogonie érythrocytaire. A l'intérieur de l'érythrocyte, chaque mérozoïte va former un anneau, ensuite un trophozoïte mur, puis un schizonte. A maturité l'érythrocyte infecté éclate et libère les mérozoïtes de seconde génération. En fonction de l'espèce, chaque schizonte donnera 8 à 32 mérozoïtes. L'éclatement synchrone des érythrocytes infectés est accompagné de libération de médiateurs chimiques qui déclenchent l'accès fébrile. Dans le cas de *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. ovale* cet événement se produit toutes les 48 heures donnant la fièvre tierce. Dans le cas de *P. malariae* l'éclatement synchrone survient toutes les 72 heures engendrant la fièvre quarte. Pour *P. knowlesi*, l'éclatement synchrone des schizontes survient toutes les 24 heures.

Au bout d'un certain nombre de cycles érythrocytaires, certains mérozoïtes se différencient en formes sexuées : les gamétocytes mâle et femelle. Ces formes sont infectantes pour le moustique, hôte vecteur, permettent le cycle sporogonique et l'échange génétique entre les populations parasites (une des sources de diversité génétique) et la transmission à l'hôte humain.

Au moment d'un repas sanguin, en absorbant le sang la femelle anophèle ingère tous les stades parasites et les éléments du sang. Seuls les gamétocytes échapperont en partie à la digestion en se transformant en zygote/ookinète. Le gamétocyte femelle suivra un processus biologique de maturation pour se transformer en macrogamète femelle à n chromosomes.

Le gamétocyte mâle va subir un processus d'exflagellation, et donner des gamètes mâles à n chromosomes. Chaque gamétocyte mâle donne naissance à 6-8 microgamètes filiformes qui vont entrer en compétition pour féconder le macrogamète femelle ; un seul y parviendra formant le zygote. Le zygote évolue en œuf mobile ou ookinète qui se déplace, traverse la membrane péritrophique et échappe ainsi à la digestion du contenu de l'estomac du moustique.

L'ookinète se fixe sur la paroi externe de l'abdomen du moustique et se transforme en oocyste. L'oocyste se développe et à maturité, éclate pour libérer plusieurs centaines de sporozoïtes. Les sporozoïtes sont fusiformes et mobiles ; ils se déplacent vers la glande salivaire du moustique qu'ils envahissent. Ici ils deviennent infectants, en l'attente d'un prochain repas de sang au cours duquel ils seront injectés avec la salive du moustique chez un hôte humain, bouclant ainsi le cycle évolutif du parasite(27).

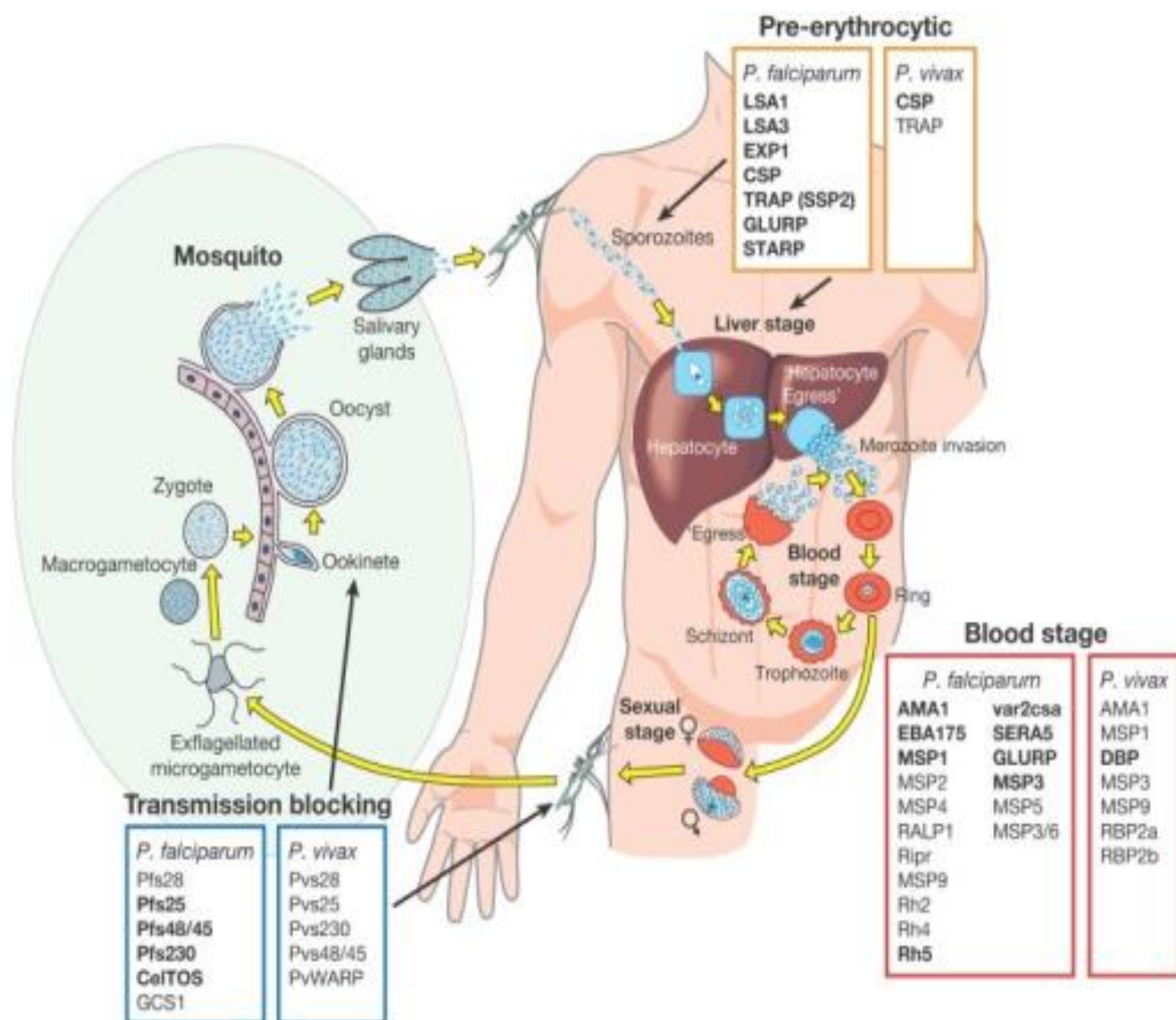


FIGURE 2: CYCLE DU DEVELOPPEMENT DU PLASMODIUM AVEC LES DIFFERENTS CANDIDATS VACCINS.

Source : Malaria vaccine candidate antigens are shown. All candidate.

3.1.5. Historique du paludisme

Le paludisme est connu et redouté depuis très longtemps, il est aussi connu sous le nom de malaria, venant de l'italien « mal aria » qui signifie « mauvais air ». Ce nom lui a été attribué car les personnes infectées vivaient dans des régions marécageuses dégageant des odeurs nauséabondes.

La découverte sur le paludisme débute en 1717 avec Giovanni Lacissi, un clinicien italien ayant établi le lien entre la présence des moustiques et de la maladie.

En 1880 Alphonse Laveran, grâce aux autopsies pratiquées sur les corps de paludéens, découvre des éléments pigmentés dans les GR des malades atteints de fièvre appellera alors *Oscillaria Malaria*. On le nommera Hématozoaire et le rangera finalement dans la classe des *Plasmodiums*.

En 1897, Ronald Ross médecin britannique démontre que la transmission du paludisme des oiseaux est assurée par des moustiques. En étudiant d'autres moustiques, il découvre des formes de *Plasmodium falciparum* dans leur tube digestif. Cette découverte montre que c'est bien les moustiques femelles qui piquent et non les mâles.

Grassi, Giuseppe Bastianelli et Amico Bignami décrivent par la suite le cycle de développement du *Plasmodium*. En 1930 on a fait la découverte de la 5^e espèce, *Plasmodium knowlesi* chez un macaque. En 1965, premier cas de transmission naturelle à l'homme(28).

3.1.6. Répartition géographique

Le paludisme sévit surtout dans les pays pauvres des zones tropicales et intertropicales.

En Afrique, le paludisme est assez rare au Nord où il sévit sous forme de foyers limités avec essentiellement *P. vivax* et *P. malariae*. Dans la zone intertropicale, l'infection palustre est endémique et largement répandue, avec une coexistence des espèces *P. falciparum*, *P. malariae* et à un moindre degré *P. ovale* et une description récente de *P. vivax*.

En Asie, le paludisme existe au Proche Orient (Turquie), dans le sous-continent indien, au Sri-Lanka, en Birmanie, en chine, en Indonésie et au Sud-Est.

En Amérique, la région du Nord est indemne de paludisme. L'affection est par contre fréquente au Centre et au Sud.

En Océanie, certaines îles sont fortement impaludées comme la Nouvelle-Guinée, les îles Salomon et le Vanuatu, alors que d'autres sont totalement indemnes de paludisme comme la nouvelle Calédonie, le Tahiti et la Nouvelle-Zélande.

En Europe, le paludisme a été éradiqué et a disparu de ses anciens foyers. Mais on observe le paludisme d'importation, comme en France, qui est en pleine augmentation du fait de l'essor des déplacements vers les pays tropicaux et une chimioprophylaxie mal observée(29).

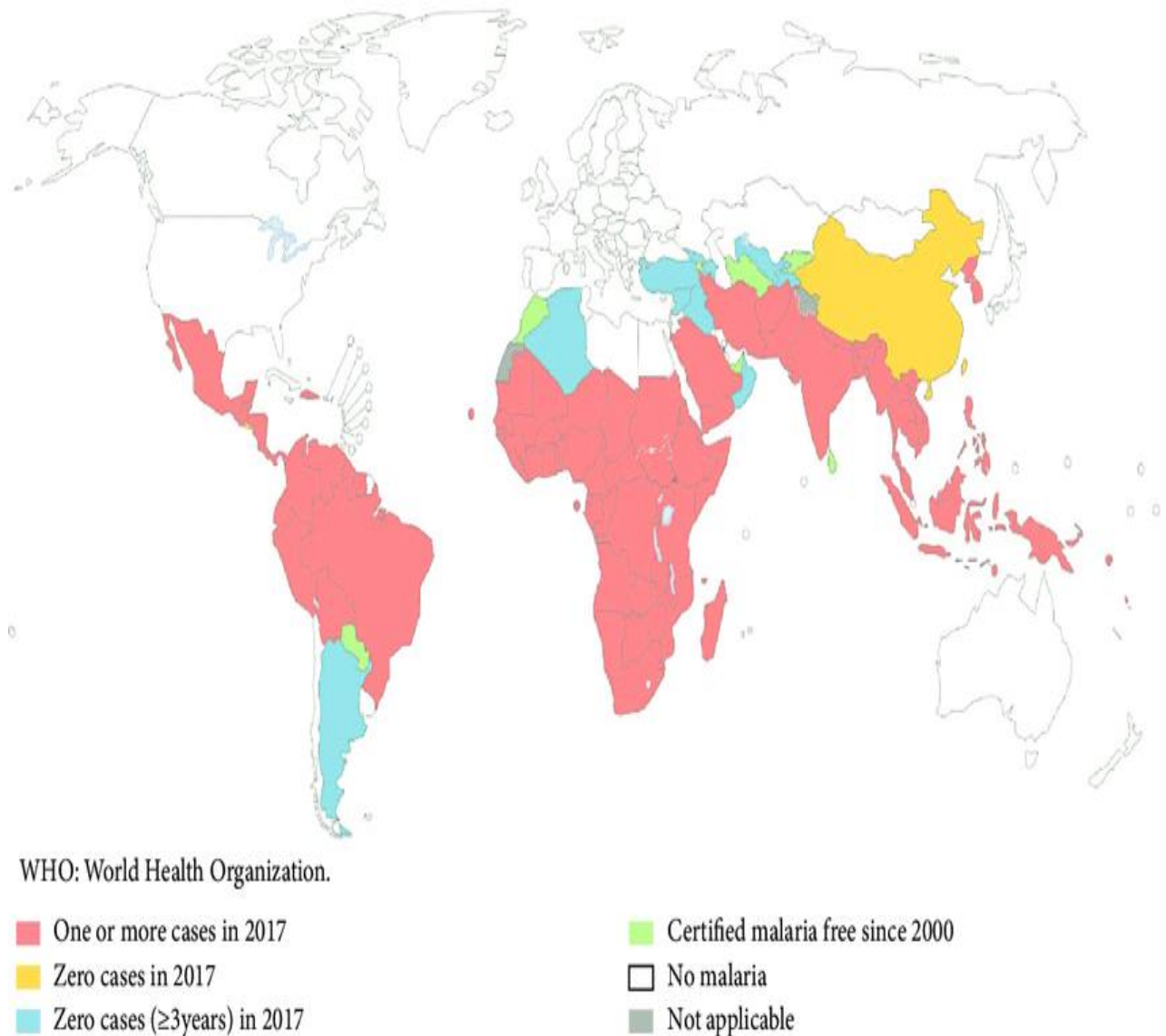


FIGURE 3: CARTOGRAPHIE DE LA REPARTITION GEOGRAPHIQUE DU PALUDISME DANS LE MONDE.

Source: global distribution of malaria throughout the world (world malaria report 2018).

3.2. Immunologie du paludisme :

L'infection par *Plasmodium*, responsable du paludisme, engendre deux mécanismes immunitaires chez l'hôte (l'immunité naturelle ou innée et l'immunité acquise ou adaptative).

Ces deux types d'immunité sont nécessaires et coopèrent pour assurer une réponse immunitaire anti-palustre efficace.

L'immunité innée se mobilise dès le début (dans les premières heures) de toute infection et se traduit chez l'homme par un état réfractaire au parasite dès le premier contact.

L'immunité acquise donne une réponse spécifique impliquant la réponse humorale et cellulaire, elle est opérationnelle dans les dix jours suivant l'infection, joue un rôle essentiel dans le paludisme.

3.2.1. L'immunité innée :

L'immunité innée se distingue de l'immunité acquise par le fait qu'elle s'active très rapidement, sans immunisation, sans vaccination préalable et elle est non spécifique. Elle se met en place dès le début de toute infection et se maintient jusqu'à la mise en place de l'immunité acquise.

Les mécanismes de cette immunité impliquent des paramètres influençant le parasite et la susceptibilité de l'hôte selon l'âge, la race, le sexe ; les réponses humorales et cellulaires (30).

3.2.1.1. Les paramètres de la biologie humaine influençant le parasite :

- ✓ **La prémunition ou semi-immunité**, un état immunitaire, acquis au contact du parasite et entretenue par sa présence, freine (sans pouvoir l'empêcher) la multiplication des parasites dans le sang (30).
- ✓ **L'immunité congénitale**, anticorps IgG passés de la mère immune au nouveau-né, protège celui-ci pendant environ six mois contre les accès graves du paludisme (31).
- ✓ **Les hémoglobines anormales**, HbF (thalassémies) et HbS (drépanocytose), HbC perturbent la schizogonie et diminuent donc la virulence du parasite (30), (31).

- ✓ Une étude menée au Mali par Dolo et al en 2005 a révélé une réduction du taux d'infection et de morbidité entre les peulhs et les dogons(32).
- ✓ Le déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6PD) perturbe le développement du parasite.
- ✓ La chimio prophylaxie empêche la multiplication exubérante du parasite et protège contre les accès de paludisme(33).
- ✓ L'ovalocytose, une anomalie du cytosquelette du globule rouge qui rend la membrane externe plus rigide, empêche la pénétration du mérozoïte(34).

3.2.1.2. Les réponses cellulaires de l'immunité innée antipaludique :

Les mécanismes cellulaires et humoraux de cette défense dite « non spécifique », ne sont pas très bien connus.

Ce pendant des études ont montré que l'infection palustre déclenche des réponses immunitaires à la fois chez la souris et chez l'homme et certaines de ces réponses immunitaires contribuent à la fois à la pathogenèse de la maladie et à l'immunité protectrice(35).

✓ Les granulocytes

Les granulocytes ou polynucléaires sont des leucocytes caractérisés par un noyau polylobé et la présence de granules dans leur cytoplasme. Il existe 3 types de granulocytes : polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et basophiles.

Les neutrophiles sont les plus nombreux et représentent les premières cellules phagocytaires. Il a été montré qu'ils sont capables de phagocyter les mérozoïtes(36). Ils expriment à leur surface des récepteurs pour la fraction Fc des immunoglobulines et des récepteurs du complément. Ce qui facilitera la phagocytose des parasites par l'intermédiaire du complément et des anticorps présents dans les sérums d'individus exposés(37). Des cytokines telles que le TNF- α , IFN- γ , le GM-CSF et IL-1 β activent les neutrophiles et induisent significativement la phagocytose des mérozoïtes(38).

L'expression du Human Leucocyte Antigen-B35 a été aussi associée à la résistance à l'infection palustre(39).

✓ **Monocytes/macrophages**

Les monocytes ont pour origine la moelle osseuse et sont libérés dans la circulation périphérique. Ce sont de grosses cellules mesurant 15 à 30 µm, avec un noyau réniforme caractéristique. La membrane plasmique a un contour irrégulier et le cytoplasme contient de nombreux lysosomes. Ils représentent 5-10% des leucocytes et sont morphologiquement et fonctionnellement hétérogènes(40).

Le marqueur spécifique des monocytes est le CD14. Ils peuvent exprimer également le CD16 et la co-expression de CD14 et de CD16 permet de distinguer 3 sous-classes de monocytes.

- les monocytes CD14⁺⁺CD16⁻ dits « monocytes classiques » ; ayant pour rôle le recrutement des neutrophiles sur le site de l'inflammation.

- les monocytes CD14⁺CD16⁺ appelés « monocytes pro-inflammatoires » sécrétant de cytokines pro-inflammatoires et

- une population dite intermédiaire exprimant CD14⁺⁺CD16⁺ appelés aussi monocytes anti-inflammatoires, sécrétant principalement l'IL-10.

Les monocytes se différencient en macrophages dans les tissus. Ces macrophages sont groupés en sous-populations ayant des fonctions différentes selon leur mode d'activation.

Les monocytes/macrophages secrètent des facteurs solubles comme les cytokines et libèrent l'oxyde nitrique (NO), les radicaux libres oxygénés (O₂⁻, OH⁻) et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ces monocytes peuvent également inhiber la croissance des parasites par le mécanisme d'inhibition cellulaire dépendante des anticorps (ADCI)(41).

✓ **Les cellules dendritiques**

Les cellules dendritiques (CDs) constituent la première ligne de défense du système immunitaire. Elles sont issues de la moelle osseuse et se subdivisent en deux groupes : les CDs myéloïdes et les CDs plasmacytoides (42).

Les CD_s plasmacytoïdes dérivent de cellules précurseurs issues de la moelle osseuse et colonisent primairement et secondairement les tissus lymphoïdes (thymus, rate, foie et ganglions lymphatiques) et y résident (43).

Les CD_s ont une capacité migratoire et de présentation d'antigènes au niveau des organes lymphoïdes secondaires plus accrue que les macrophages qui vivent et meurent sur place après recrutement par les tissus. Ce sont les cellules présentatrices d'antigènes professionnelles (43).

Les CD_s sont fondamentales pour l'initiation de la réponse immune par éducation des cellules B et T, qui sont les cellules effectrices de l'immunité acquise.

Les différents sous-groupes de CD sont repartis dans les tissus périphériques et dans le sang, reconnaissent les molécules de surface exprimées par les microbes et sécrètent des cytokines. Sous l'influence d'un stimulus inflammatoire, les CD_s sont activées et entament leur processus de maturation conduisant à l'activation et à l'initiation de la réponse cellulaire T (43).

✓ **Les cellules tueuses naturelles**

Les cellules tueuses naturelles (Natural killer ou NK) sont des types de lymphocytes, qui sont principalement trouvés dans le sang périphérique, la rate et dans la moelle osseuse. Elles constituent un composant important du système immunitaire inné (43).

Ces cellules jouent un rôle majeur dans la destruction des cellules infectées par les virus et des tumeurs. Leur rôle dans la protection contre l'infection palustre reste encore à être élucidé. Il a été prouvé que l'activité des NK augmente chez les sujets infectés par le *Plasmodium* et que cette activité dépend de la parasitémie et du taux d'IFN- γ . Une autre étude a montré que lorsque les cellules mononuclées du sang périphérique sont exposées aux globules rouges parasités, les NK sont les premières à produire l'IFN- γ . La production d'IFN- γ semble être liée à la fois à un contact direct entre les globules rouges parasités et les cellules NK et aussi à la présence des cellules accessoires lymphoïdes et myéloïdes(43).

3.2.1.3. Système du complément :

Le système de complément (C) joue un rôle important dans la défense contre les pathogènes par l'opsonisation, la réponse inflammatoire, l'élimination des complexes antigène-anticorps ou par destruction des pathogènes. Il est constitué d'une trentaine de protéines membranaires et plasmatiques(44).

Au cours du paludisme le système du complément est activé par les antigènes exprimés à la surface des globules rouges parasités(45);(46). L'hémoglobine et l'hématine libérés par la lyse intravasculaire des érythrocytes infectés par *P. falciparum* ont des propriétés inflammatoires et peuvent activer le complément(47);(48). Chez des enfants faisant le paludisme simple un taux faible de C3, C4 et C1q a été observé. Selon l'étude de Wenish, l'activation de la voie classique aussi bien que de la voie alterne est associée à une augmentation de Bb, Sc5b-9 et de C4d. La voie des « Mannose Binding Lectines » (MLB) quant à elle pourrait être activée par la liaison des lectines aux érythrocytes infectés.

Ainsi un déficit en lectine liant les mannoses, peut compromettre la capacité de l'organisme à lutter contre le paludisme(49);(50). Les fractions C3a et C5a obtenues par clivage de C ont des propriétés chimiotactiques permettant le recrutement des cellules inflammatoires(51).

3.2.2. L'immunité acquise :

C'est un état immunitaire qui confère une protection relative acquise progressivement (2 à 6 ans), provoqué et entretenu par la présence du parasite dans l'organisme de l'hôte, il empêche la survenue de formes cliniques graves du paludisme. Cet état n'est pas stérilisant et il s'estompe après le départ de la zone d'endémie(34).

3.2.2.1. Les réponses cellulaires :

L'activité phagocytaire des cellules de lignée monocyte/macrophage et des polynucléaires neutrophiles vis-à-vis des hématies parasitées, ou des parasites libres et de leurs débris, a été rapportée depuis longtemps (52). Cette phagocytose est directe ou indirecte.

L'internalisation du matériel parasitaire ou érythrocytaire par le macrophage sera suivie d'une protéolyse des antigènes de *Plasmodium* et certains de leurs dérivés peptidiques seront sélectionnés et exprimés à la surface cellulaire, en association à des molécules de présentation des antigènes, des molécules HLA.

Leur reconnaissance par le TCR des cellules T déclenche l'activation des lymphocytes T qui possèdent un rôle critique en tant que cellule effectrice dans l'immunité contre les stades sanguins.

Les lymphocytes T CD8⁺ interviennent directement par une activité cytotoxique. Les cellules T CD4⁺ agissent indirectement par le contrôle et l'activation d'autre cellule effectrice via les lymphokines.

En effet des études menées chez la souris ont montré que deux des fonctions des lymphocytes T CD4⁺ les plus connus, à savoir la stimulation des monocytes/macrophages comme cellules effectrices de la réaction inflammatoire et la coopération avec les lymphocytes B dans la synthèse des immunoglobulines sont accomplies par deux sous populations différentes (53). Dans le premier cas il s'agit de Th1 (T helper type 1) et dans le second des Th2 (T helper type 2) ; ces différentes cellules secrètent de nombreuses cytokines (54).

Les lymphocytes Th1 seraient impliqués dans la réponse immunitaire dirigée contre les stades pré-érythrocytaires et érythrocytaires (55).

Lorsqu'elles sont activées par les Ag parasitaires, elles secrètent entre autres des médiateurs comme l'IL-2, l'IFN γ , la lymphotoxine ou TNF β et l'IL-3. Les cytokines produites par les lymphocytes Th2 sont l'IL-4, l'IL-5, l'IL-10 et l'IL-13 qui favorisent la production d'anticorps par les cellules B (56). D'autres sous populations ont été décrites plus tard notamment les Th17 et les T reg. Le rôle des cellules Th17 et des T reg dans la protection contre le paludisme reste à explorer. Les cellules T CD8⁺ se subdivisent en trois sous-groupes selon l'expression de CD62 et de CD127. Les cellules T mémoires expriment à la fois CD62 et CD127L : CD62L⁺ CD127⁺ (43).

Les lymphocytes B arrivent à maturation au sein de la moelle osseuse. Lorsqu'ils quittent cette dernière, chacun exprime sur sa membrane un récepteur de liaison à l'antigène spécifique. Le récepteur des cellules B (BCR, de B-cell Receptor) est constitué principalement d'une molécule d'anticorps membranaire qui ne reconnaît qu'un seul antigène donné.

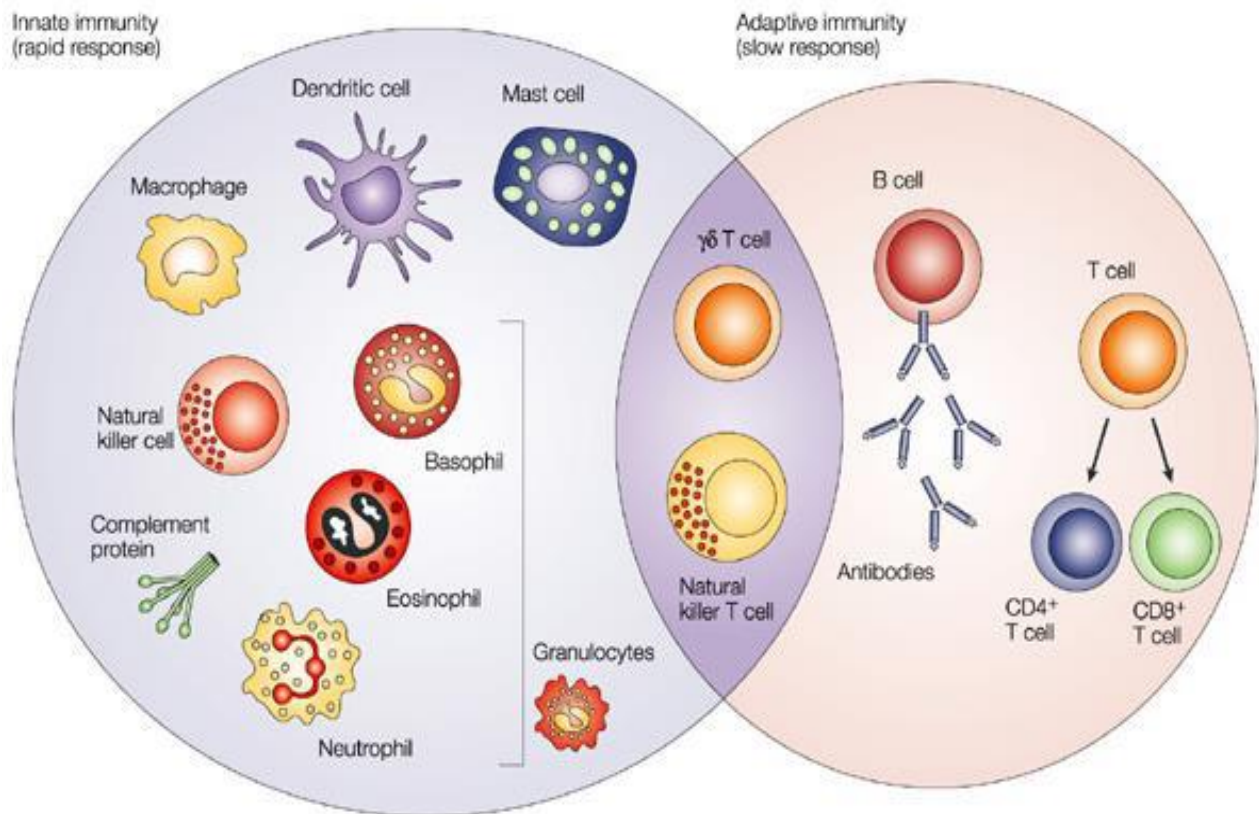


FIGURE 4: REPONSE IMMUNITAIRE INNEE ET ADAPTATIVE.

Source : Nature Reviews Cancer 2004.

3.2.2.2. Les réponses humorales :

Les cellules B, les seules capables de se différencier en plasmocytes sécréteurs d'anticorps, jouent un rôle important dans l'immunité humorale. Elles constituent 15% des lymphocytes (43).

Dans des études longitudinales, la prévalence et le niveau des anticorps anti-plasmodiaux étaient associés à la protection contre le paludisme clinique(57). Les anticorps agissent : Soit directement sur l'élément parasitaire et/ou sur les hématies parasitées par agglutination ou par lyse en présence du complément, Soit en association avec des cellules immunocompétentes par le système d'ADCI (Antibody Dependant Cell-mediated Inhibition)(58).

A chaque stade du cycle de développement du parasite correspond une réponse immune spécifique.

-Au niveau du foie, les anticorps et les cytokines telles que IFN γ dirigés contre les sporozoïtes seraient capables d'altérer leurs revêtements de surface, d'inhiber leur pénétration dans les hépatocytes ou de ralentir leur développement intra-hépatocytaire.

Les anticorps anti-TRAP (Thrombospondin Related Adhesion Protein) inhibent *in vitro* l'invasion des hépatocytes par les sporozoïtes(59).

Les anticorps anti- LSA-3 et anti-AMA1 bloquent l'invasion des hépatocytes(60),(61).

-Au niveau des érythrocytes, au cours de la schizogonie érythrocytaire l'organisme réagit en mettant en place des immunoglobulines G (IgG) cytophiliques qui activent les fonctions effectrices cytotoxiques et phagocytaires des neutrophiles et des monocytes, et aussi une grande production d'immunoglobuline E (IgE). Le complexe immunitaire IgE-antigène est impliqué dans l'activation des monocytes qui produisent du monoxyde d'azote qui est toxique pour les mérozoïtes.

3.3. Les lymphocytes T :

3.3.1. Morphologie :

Au microscope, les lymphocytes apparaissent comme des cellules ovoïdes, nucléées, dont le noyau de grande taille (environ 7 μ m, soit le diamètre d'un globule rouge) occupe quasiment tout le cytoplasme. Sa chromatine est disposée en mottes.

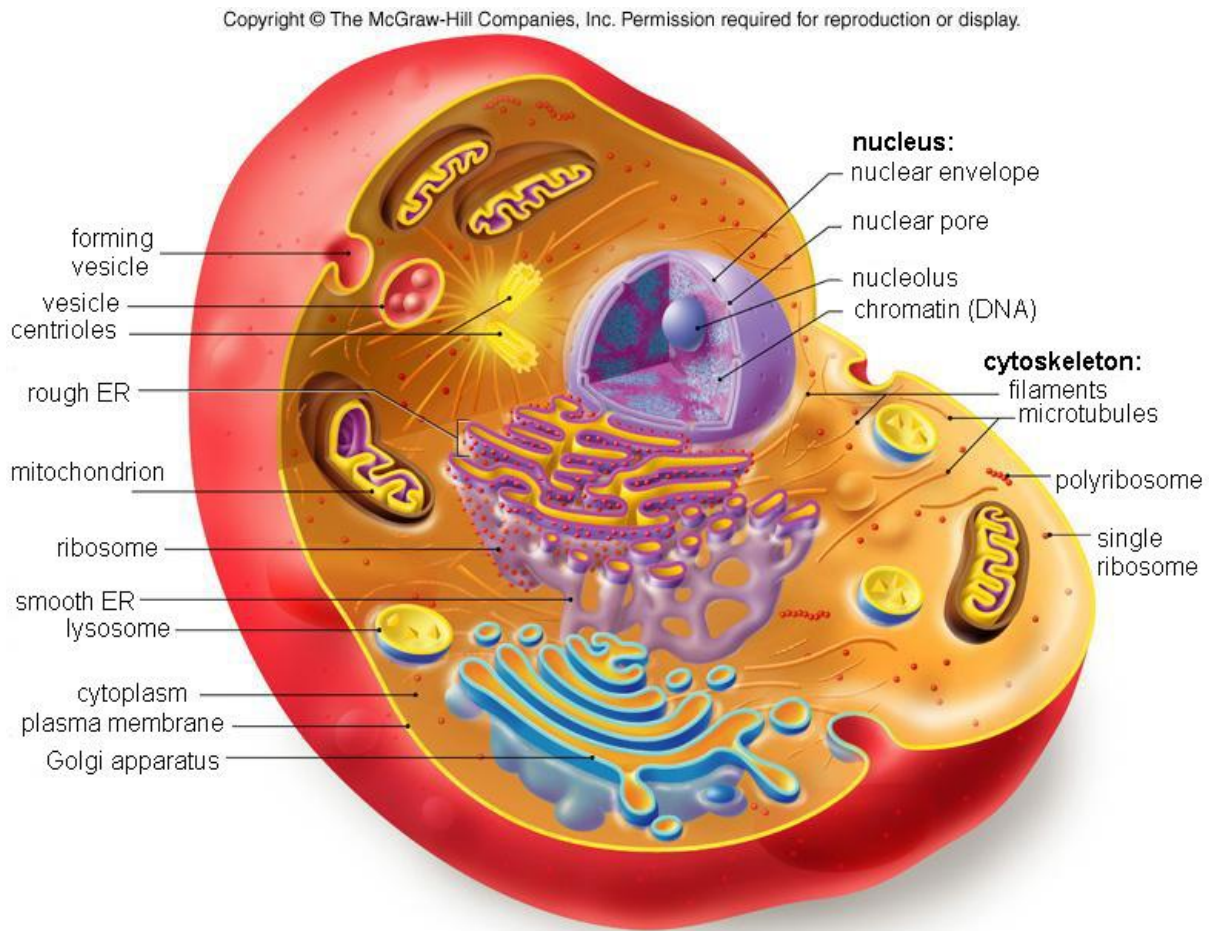


FIGURE 5: STRUCTURE DU LYMPHOCYTE T.

Source: *The flow chart of cell adaptation and injury., Apoptosis par Sydney Thompson.*

Les lymphocytes T, ou cellules T, sont une catégorie de leucocytes qui jouent un grand rôle dans l'immunité acquise. « T » est l'abréviation de thymus, l'organe dans lequel leur développement s'achève.

Ils sont responsables de l'immunité cellulaire : les cellules infectées par un virus par exemple, ou les cellules cancéreuses reconnues comme étrangères à l'organisme (c'est-à-dire distinctes des cellules que les lymphocytes T ont appris à tolérer lors de leur maturation) sont détruites par un mécanisme complexe.

Les lymphocytes T expriment tous le marqueur membranaire CD3.

3.3.2. Types de lymphocytes T :

✓ Lymphocytes T conventionnels

Les lymphocytes T cytotoxiques (TCD8 ou CTL)

Ils détruisent les cellules infectées. Ces cellules sont dites cytotoxiques car elles sont à elles-mêmes capables de détruire des cellules cibles qui présentent des antigènes spécifiques à travers le CMH de classe I. Elles portent à leur surface un marqueur CD8.

Les lymphocytes T auxiliaires (TCD4 ou T helper)

Ils sont des intermédiaires de la réponse immunitaire et prolifèrent pour activer en quantité d'autres types de cellules qui agiront de manière plus directe sur la réponse. Les T auxiliaires régulent ou aident à la réalisation d'autres fonctions lymphocytaires. Elles portent à leur surface un marqueur CD4.

Lors d'une stimulation antigénique, les LT CD4⁺ naïfs, ou Th0, ont la capacité de s'engager dans diverses voies de différenciation. La principale fonction des cellules Th1 est l'activation des macrophages, ce qui est essentiel pour l'élimination efficace des microbes ingérés. Cette réaction a été la base de la définition originale de l'immunité cellulaire, et reste peut-être la fonction la mieux comprise des lymphocytes T CD4⁺. Les lymphocytes T effecteurs de la sous-population Th1 qui reconnaissent les antigènes associés aux macrophages activent ces cellules par des interactions entre le ligand de CD40 (CD40L) et CD40, et en sécrétant l'interféron γ (IFN- γ). A l'inverse, les cellules Th2 se révèlent incapables de produire de l'IFN γ mais sont caractérisées par leur production d'IL-4, d'IL-5 et d'IL13 et favorisent la réponse humorale en aidant à la production d'anticorps par les LB. Les Th17 sont caractérisés par leur production d'IL17A, IL17F et IL22 et favorisent le recrutement de leucocytes dans le foyer infectieux. Enfin, deux populations régulatrices majeures dérivant des LT CD4⁺ : les Tregs d'origine thymique (appelées naturelles, nTregs) et les Tregs induits à partir de LT CD4⁺ naïfs (iTregs). Chacune de ces lignées de LT effecteurs est associée à des facteurs de transcriptions spécifiques. Ainsi, T-bet, GATA-3, Foxp3 et ROR γ t ont, respectivement, un rôle majeur dans la différenciation et l'homéostasie des cellules Th1, Th2, Tregs et Th17.(62)

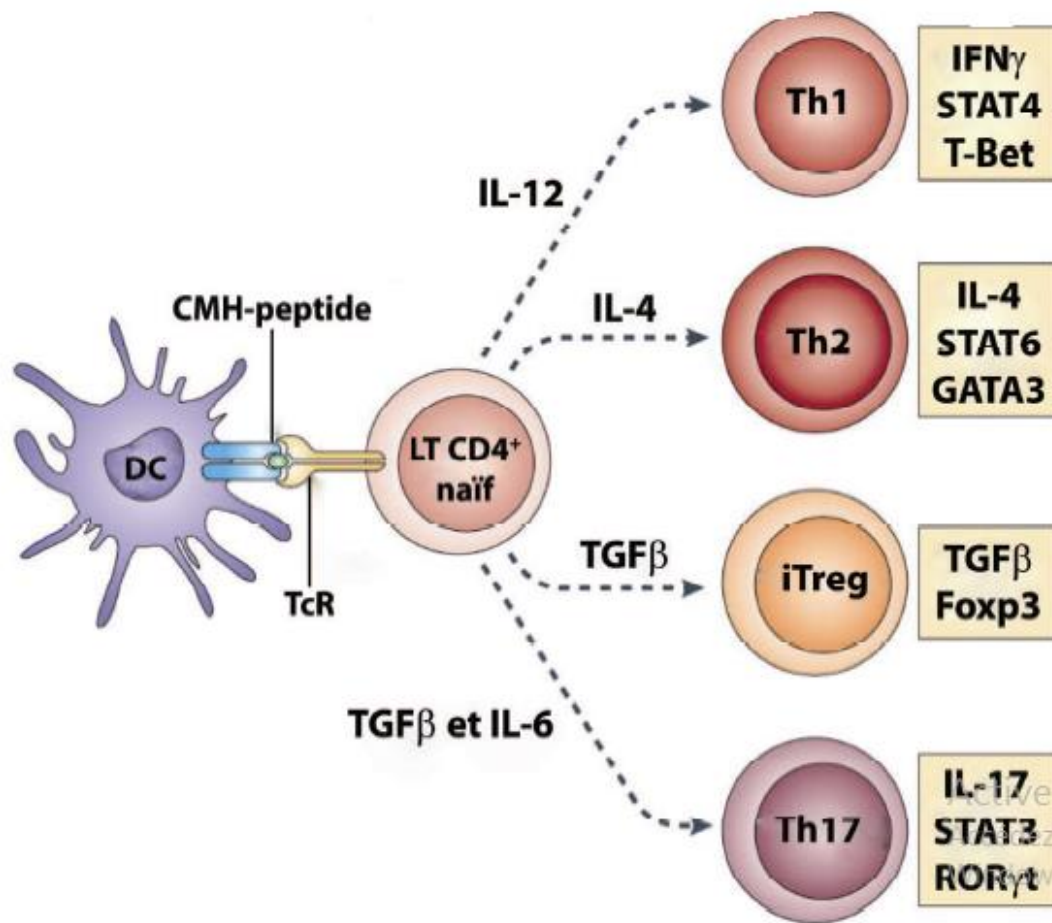


FIGURE 6: VOIES DE DIFFERENCIATION DES LT CD4+ NAÏFS. ZOU ET AL NATURE REVIEWS IMMUNOLOGY 2010.

✓ Lymphocytes T non conventionnels

Les lymphocytes T gamma delta ($\gamma \delta$)

Les LT- $\gamma\delta$: sont des lymphocytes T particuliers caractérisés par l'expression d'un TCR-1 associé à un CD3 mais ne présentant ni CD4, ni CD8. Ils sont beaucoup plus rares que les LT présentant un TCR-2. Ces LT ont un récepteur à l'antigène des LT (TcR) composé des chaînes γ et δ (63). Ils reconnaissent les antigènes exprimés à la surface des cellules tumorales et participent ainsi au contrôle immunitaire de ces dernières.

Ils possèdent une activité cytotoxique importante utilisant la voie des granules cytotoxiques et des récepteurs de mort, mais aussi via leur production importante de $\text{TNF}\alpha$ - et $\text{IFN-}\gamma$.

✓ **Les lymphocytes NKT**

Ils sont un type de lymphocytes présentant des marqueurs de cellule T (CD3) et des marqueurs de cellules NK. Ils sont donc un lien entre le système immunitaire inné et le système immunitaire adaptatif. Contrairement aux lymphocytes T conventionnels, dont le TCR reconnaît un peptide présenté dans une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), les NKT sont capables de reconnaître un glycolipide présenté dans une molécule appelé CD1, structurellement proche du CMH de classe I. Une fois activés, les NKT sont capables de lyser les cibles et de sécréter des cytokines (62).

✓ **Les lymphocytes MAIT**, ou "lymphocytes T invariants associés aux muqueuses", disposant d'un TCR semi-invariant.

3.4. Les lymphocytes T mémoire :

Les **lymphocytes T mémoire** font partie des lymphocytes T jouant un rôle dans la réponse immunitaire secondaire contre un antigène déjà rencontré. Cette réponse est caractérisée par sa rapidité et son efficacité.

Ce qui distingue les cellules T mémoire des naïfs et des effecteurs, les lymphocytes T sont un domaine d'une grande importance pour les vaccinologues.

Progrès dans les domaines de la génomique, de la biochimie et de l'immunologie ont fourni de nouvelles perspectives sur les différences entre les cellules T naïves, effectrices et mémoire.

Plus précisément, l'avènement des technologies tétramères MHC-I et MHC-II, ELISPOT et analyses intracellulaires des cytokines, en combinaison avec la prolifération ou la lymphoprolifération historique de la 3H-thymidine (LPR) et le dosage de dilution limite (LDA), ont permis aux immunologistes de phénotypiquement et caractériser les lymphocytes T CD4 + et T CD8 + naïfs, effecteurs et fonctionnels avant et après la vaccination et à tous les stades de l'infection.

Les lymphocytes T CD4 + et T CD8 + mémoire diffèrent des lymphocytes T naïfs et effecteurs de trois manières: (i) les cellules mémoire expriment des marqueurs d'activation distincts et des protéines intracellulaires qui les distinguent des lymphocytes T naïfs et effecteurs (Fig. 2); (ii) les cellules mémoire ont des seuils d'activation inférieurs et des fonctions effectrices distinctes des cellules T naïves; et (iii) les cellules de mémoire expriment distinctes des chimiokines et des récepteurs d'adhésion qui leur permettent de rentrer et de circuler dans les tissus et organes infectés à travers le corps(64).

3.4.1. Les sous-population de lymphocyte T mémoire :

Il existe deux types de lymphocytes T à mémoire :

- **Les lymphocytes T effecteurs mémoire** (que l'on trouve essentiellement dans les tissus périphériques). Cette localisation dans différents tissus, au plus près du site d'entrée de l'antigène, favorise une rencontre ultérieure avec l'antigène et les lymphocytes T mémoire. Les Lymphocytes T mémoire se localisent préférentiellement vers les tissus où s'est produite la première infection.
- **Les lymphocytes T de la mémoire centrale** (que l'on trouve principalement dans les organes lymphoïdes)(65).

Après la vaccination, les cellules dendritiques (DC) captent les antigènes microbiens et les transportent vers le drainage ganglions lymphatiques où DC présentent des antigènes traités et co-stimulent les lymphocytes T naïfs CD45RA +, CCR7 +, CD62L +, CD27 +, CD8 + et CD4 +. Les cellules T spécifiques à Ag deviennent activées, les effecteurs CD45RA + ou CD45RO +, CCR7–, CD62L– et CD27– qui se divisent rapidement, acquièrent des capacités cytolytiques, sécrète l'IL-2 et les cytokines antimicrobiennes IFN- et TNF-, fournit une aide aux cellules B et le trafic vers les sites d'infection. Après que le microbe envahissant a été effacées, plus de 90% des lymphocytes T effecteurs meurent par apoptose alors que quelques lymphocytes effecteurs continuent d'exprimer des niveaux élevés de Bcl-2 et devenir des lymphocytes CCR7– T à mémoire d'effecteur (TEM) à longue durée de vie ou des lymphocytes CCR7 + T à mémoire centrale (TCM).

Les TCM sont spécialisés pour stimuler les cellules dendritiques, sécrètent IL-2 et IL-10, et prolifèrent dans le tissu lymphoïde secondaire pour augmenter la population de lymphocytes effecteurs, tandis que les TEM sont prêts à combattre réinfection aux sites d'infection en sécrétant des cytokines antimicrobiennes telles que l'IFN et le TNF et en tuant les cellules infectées via le mécanisme de la perforine de cytolysse.(64)

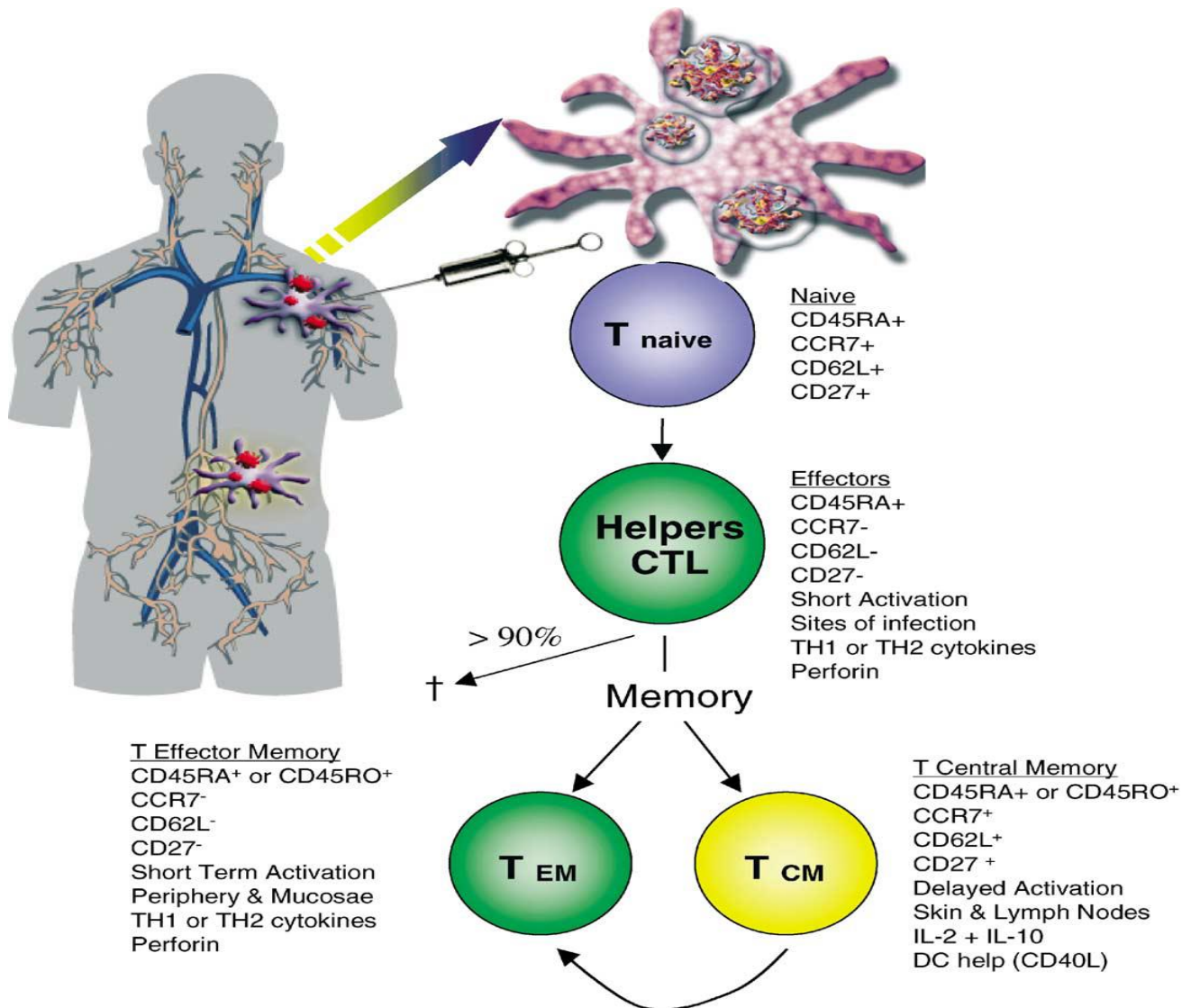


FIGURE 7: INDUCTION VACCINALE DES CELLULES T MEMOIRE CHEZ L'HOMME.

Source: Memory T cells and vaccines.

3.5. Les marqueurs phénotypiques :

- ✓ **CXCR5 Cellules T auxiliaires (T_{FH}) folliculaires :** Les cellules T atteignent la région paracorticale des ganglions lymphatiques *via* les veinules endothéliales élevées (sang) ou les vaisseaux lymphatiques afférents (tissus périphériques) en réponse aux chimiokines spécifiques CCR7 CCL19 et CCL21. Lors du contact avec les CD présentant l'antigène, les cellules T deviennent immunisées, ce qui inclut l'induction de l'expression de CXCR5.

L'expression réduite de CCR7 permet aux cellules CXCR5⁺ T (T_{FH}) nouvellement générées de répondre au CXCL13 folliculaire et de se déplacer vers les follicules des cellules B où les interactions des cellules T_{FH} -B impliquant une série de récepteurs de co-stimulation (CD40, ICOS, etc.) et les cytokines (IL-10, IL-21, etc.) initient la réaction du centre germinal et la formation de plasmocytes sécrétant des anticorps et de lymphocytes B mémoire. Les lymphocytes T CD4⁺ exprimant le récepteur Chemokine CXCR5 ont été décrits pour la première fois dans le sang humain il y a plus de 20 ans(66). Bien que ces cellules aient été initialement considérées comme des lymphocytes T récemment activés, des études récentes indiquent que les cellules T de sang CXCR5⁺ CD4⁺ contiennent des cellules de mémoire de longue durée qui partagent des propriétés fonctionnelles avec des cellules TFH. En conséquence, les cellules de sang CXCR5⁺ CD4⁺ T sont actuellement appelées cellules de mémoire du sang (ou périphériques) TFH(67).

- ✓ **PD-1 : Protéine cellulaire de la mort programmée :** La PD1 ou CD279 est une protéine de la famille des CD28 qui comprend les récepteurs CD28, les antigènes associés aux lymphocytes T cytotoxiques (CTLA-4), les co-stimulateurs inductibles (CISO) et les atténuateurs des lymphocytes B et T. Ces récepteurs jouent un rôle dans la réponse immunitaire cellulaire. Par exemple, le CD28 est un récepteur co-stimulateur qui améliore l'activation des cellules T, alors que le CTLA-4 est un inhibiteur de l'activation des cellules T. Le PD1 a également une fonction inhibitrice sur les cellules T et B, et joue un rôle important dans la tolérance périphérique. Le PD1 a au moins 2 ligands (le PD-L1 et PD-L2), son interaction avec ces ligands exprimée sur les cellules présentatrices d'antigènes (APCs) et les tumeurs envoie un signal négatif aux lymphocytes T, ce qui peut conduire à l'épuisement des lymphocytes T.

Le CD28 est exprimé constitutivement sur la plupart ou la totalité des cellules T CD4⁺ et environ 50% des cellules T D8⁺, alors que le CTLA-4 n'est pas exprimé sur les cellules T au repos.

3.6. Vaccination anti-palustre :

3.6.1. Les différents types de candidats vaccin :

La mise au point d'un vaccin anti-palustre devient de plus en plus réelle. Plusieurs équipes de chercheurs, mènent actuellement des travaux orientés sur l'identification, la synthèse et l'emploi d'antigènes vaccinant issus des stades de développement parasitaire, permettant ainsi le blocage du cycle.

3.6.1.1. Les vaccins pré-érythrocytaires ou hépatiques :

Pendant le stade hépatique, le parasite mûrit dans les hépatocytes. Une immunité à médiation cellulaire (la réponse Th1) est donc pensée comme critique. Cela implique des lymphocytes qui peuvent alors cibler et détruire les cellules du foie infectées, détruisant ainsi les parasites se développant. L'immunité spécifique envers les stades hépatiques ne peut être réalisée que par une action coordonnée des cellules T CD8 et des anticorps spécifiques, qui collaborent avec les cellules Natural killer (NK) et les macrophages (MA). L'interféron-gamma (IFN- γ) y joue un rôle important(68).

Puisque les antigènes du stade hépatique peuvent être exposés relativement longtemps, augmentant avec l'exposition à l'infection naturelle, ils peuvent renforcer la réponse immune du vaccin(69).

Les vaccins dirigés contre le stade pré-érythrocytaire ont pour objectif de prévenir l'infection des hépatocytes et/ou de détruire les hépatocytes infectés. Les mécanismes immunitaires effecteurs comprennent des anticorps contre la surface du sporozoïte et l'IFN- γ produit par des cellules CD8⁺ et T CD4⁺. Les bénéficiaires principaux sont les enfants dans les zones endémiques, les voyageurs et les résidents non immuns de zones à faible transmission. Des candidats vaccins de ce type tels que RTS, S/AS02 et PfSPZ sont en cours de développement.

Le RTS, S/AS02 est constitué de particules chimériques contenant l'antigène HBs (antigène S de l'hépatite B) et une portion de la protéine circumsporozoïtaire (CSP) fusionnée à cet antigène.

D'autres antigènes comme la LSA1, LSA3, PfEXP1, STARP, SALSA et TRAP/SSP2 sont aussi inclus dans des vaccins contre les stades pré-érythrocytaires en cours de développement(70).

3.6.1.2. Les vaccins érythrocytaires :

Pendant le stade érythrocytaire, le parasite est caché dans les globules rouges. Puisque les globules rouges n'expriment pas les molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité I ou II, la réaction immunitaire est à la charge des anticorps et les processus associés. Par exemple, la médiation cellulaire cytotoxique dépendante des anticorps et l'activation du système du complément pourraient jouer un rôle dans l'élimination des globules rouges infectés(69).

Les vaccins dirigés contre le stade sanguin asexué ont pour objectif de réduire le niveau de la parasitémie et la maladie. Ils agissent en permettant le blocage de l'infection des hématies avec des anticorps et/ou la destruction des hématies infectées. Leurs bénéficiaires seraient les enfants des zones endémiques. Un exemple de ce type de vaccin est celui basé sur la protéine de surface MSP-1 développé à l'Institut Pasteur de Paris. Il s'agit d'une protéine MSP-119 produite en baculovirus. D'autres vaccins contre les stades asexués érythrocytaires comprennent les antigènes AMA1, GLURP, HRP- 1, MSP1, MSP2, MSP3, RAP- 2, RESA, SERA ou PfEMP1(70).

Des mécanismes multiples qui pourraient induire une immunité protectrice ont été identifiés, comme les anticorps qui agissent réciproquement avec les récepteurs superficiels des érythrocytes et interdisent leur invasion par les mérozoïtes, les anticorps qui aident à détruire les parasites intra-érythrocytaires par les monocytes, anticorps directement dirigés contre les antigènes de surface des mérozoïtes qui obtiennent une agglutination des mérozoïtes libres et facilitent leur phagocytose, ou les anticorps qui empêchent l'attache d'érythrocytes infectés à l'endothélium vasculaire, pour ne pas mentionner des cytokines comme l'IFN- α , Le TNF- α ou IL-12, qui peuvent obtenir par médiation la mise à mort du parasite. Le défi majeur rencontré par les vaccins qui ont pour but de répondre à ce type de questions est le haut polymorphisme et la variabilité des antigènes du mérozoïte(71).

Des chercheurs s'intéressent de plus près au stade érythrocytaire asexué du parasite de la malaria, qui cause la maladie clinique. L'immunité des stades érythrocytaires est pensée pour être obtenue par médiation par des anticorps qui bloquent l'invasion, opsonisent les érythrocytes infectés ou les réponses à médiation cellulaire qui éliminent les parasites via une surrégulation de médiateurs inflammatoires.

Ils sont particulièrement intéressés par le rôle que les lymphocytes T CD4 naturels ou induits par le vaccin jouent dans l'immunité à médiation cellulaire.

Ils ont utilisé des modèles de rongeurs pour comprendre les réactions immunitaires à l'infection et la pathologie induite par le stade érythrocytaire du parasite. Leurs premières études de souris immunisées avec deux des vaccins candidats principaux, MSP1-19 et AMA-1, ont démontré que les cellules T CD4 + sont certainement critiques pour l'induction d'une immunité agissant comme un effecteur (anticorps indépendant) et/ou comme des cellules helper (anticorps dépendant).

3.6.1.3. Les vaccins ciblant le stade sexuel du parasite :

La réaction immunitaire aux stades sexuels dépend du transfert de l'anticorps de l'hôte chez le moustique pendant le repas sanguin. L'anticorps humain neutralise alors les stades sexuels avant qu'il n'ait l'opportunité de mûrir et de se développer en sporozoïte(69).

Des vaccins contre le stade sexué visent à prévenir la transmission par des anticorps pouvant bloquer le développement du parasite chez le vecteur. Les récipiendaires de ces vaccins seraient des populations vivant dans des zones de faible transmission. Ce type de vaccin serait utile en combinaison avec des vaccins ciblant d'autres stades de développement du parasite. Les antigènes susceptibles de susciter la production d'anticorps bloquant la transmission comprennent Pfs230, Pfs48/ 45, Pfs27/ 25, Pfs28, Pfs25 et Pfs16(70).

3.6.2. Développement clinique d'un vaccin antipaludique :

Le développement clinique d'un vaccin suit une série logique d'évaluations liées les unes aux autres dans un processus itératif qui vise à définir les caractéristiques du produit en termes de tolérance, de réponse immunitaire induite, de schéma de vaccination et d'efficacité.

Au terme du développement clinique, le candidat vaccin antipaludique devient un vaccin aux indications précises. Le développement clinique intervient suite aux études sur le modèle animal et représente un parcours de combattant jalonné d'essais cliniques chez l'homme.

Les modèles animaux ne peuvent reproduire de façon satisfaisante l'infection à *P. falciparum*, ni la réponse immune qu'induirait un vaccin chez l'homme (72).

Les conclusions de ces essais ne peuvent être extrapolées à l'homme de façon fiable. Il est impératif que le candidat vaccin antipaludique soit testé sur les sujets à risque de paludisme vivant en zone d'endémie, et qui aussi bénéficieraient le plus du vaccin.

Dans le cas des vaccins des stades sanguins asexués, les essais d'efficacité à petite échelle, conduits en zone de forte incidence du paludisme apparaissent comme le chemin le plus court dans le développement clinique pour arriver à un produit fini et commercialisable(73);(74).

Ces essais en zone d'endémie exigent qu'ils y existent des sites capables de les conduire. Les candidats vaccins antipaludiques doivent être rigoureusement évalués.

Les études sur l'efficacité et les effets secondaires interviennent avant et après la mise sur le marché du vaccin pour usage. Les évaluations avant la mise sur le marché ("prelicensing vaccine trials") comportent classiquement 3 phases :

3.6.2.1. Les essais de Phase I :

Ils correspondent à la première administration du candidat vaccin chez l'homme. Ces essais évaluent la tolérance et l'immunogénicité du candidat vaccin. Le nombre de volontaires est réduit : environ 10-120 personnes, d'abord chez les adultes puis chez les enfants. En phase I on peut aussi tester différentes doses et différents schémas de vaccination.

Les essais en phase I portant sur des participants non exposés au paludisme ont été dénommés essais de phase Ia et ceux chez les participants vivant en zone d'endémie et naturellement exposés au paludisme ont été dénommés essai de phase Ib.

3.6.2.2. Les essais de Phase II :

Le but de ces essais est d'établir la preuve de la protection conférée par le candidat vaccin.

Un effectif plus important est inclus (n=200-600) ; cette phase évalue l'efficacité, l'immunogénicité et continue d'évaluer la tolérance du vaccin. On distingue les essais de phase 2a, où la protection est évaluée suite à « un challenge artificiel » ; c'est-à-dire à une épreuve d'infection expérimentale des participants. Les essais de phase 2b portent sur les populations réellement à risque et exposées à l'inoculum parasitaire naturel.

Dans le processus du développement clinique, la décision critique de poursuivre le développement du vaccin est prise suite aux résultats obtenus en phase II.

3.6.2.3. Les essais de Phase III :

Ils confirment l'efficacité du candidat vaccin qui a donné ses preuves en phase II. Ces essais portent sur un grand échantillon (n=1200-15000) Les critères de jugement peuvent comprendre la mortalité liée au paludisme ou l'incidence des formes graves et compliquées. La phase III permet aussi d'évaluer le niveau et la durée de protection, l'importance des effets secondaires dans une plus large population. Les résultats de phase III sont critiques pour l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché.

3.6.2.4. Les essais de phase IV :

Ces essais comportent les évaluations après la mise sur le marché ("post-licensing monitoring") du vaccin. Il s'agit non seulement de l'évaluation continue de l'efficacité du vaccin, mais aussi de l'amélioration des pratiques vaccinales et de la détection des effets secondaires rares. Ils visent à améliorer le mode d'administration, à réduire au maximum les doses, à mettre au point un système de chaîne de froid pratique surtout pour les pays chauds, à rechercher d'autres indications sur le terrain, à mettre au point les grandes lignes opérationnelles pour la conduite des programmes de vaccinations sur le terrain (formation des agents ou des équipes mobiles, instruments utilisés, surveillance et évaluation des programmes de vaccination; améliorer et rationaliser la gestion, extension des zones d'intervention) (75).

3.6.3. Les vaccins antipaludiques en cours d'étude :

Les vaccins antipaludiques sont considérés parmi les modalités les plus importantes pour la prévention potentielle et la réduction de la transmission du paludisme. La recherche et le développement dans ce domaine ont fait l'objet d'efforts intenses de la part de nombreux groupes au cours des dernières décennies.

Des chercheurs, des spécialistes des essais cliniques et des développeurs de vaccins ont travaillé sur nombreuses approches pour permettre en avant la disponibilité d'un vaccin contre le paludisme.

Ces feuilles de calcul ont été compilées par l'OMS avec l'aide de plusieurs organismes importants de financement des vaccins antipaludiques, des chercheurs individuels et de groupe, en fin de constituer un tableau représentant le résumé public le plus complet des projets de vaccins contre le paludisme à l'échelle mondiale.

Global malaria vaccine pipeline

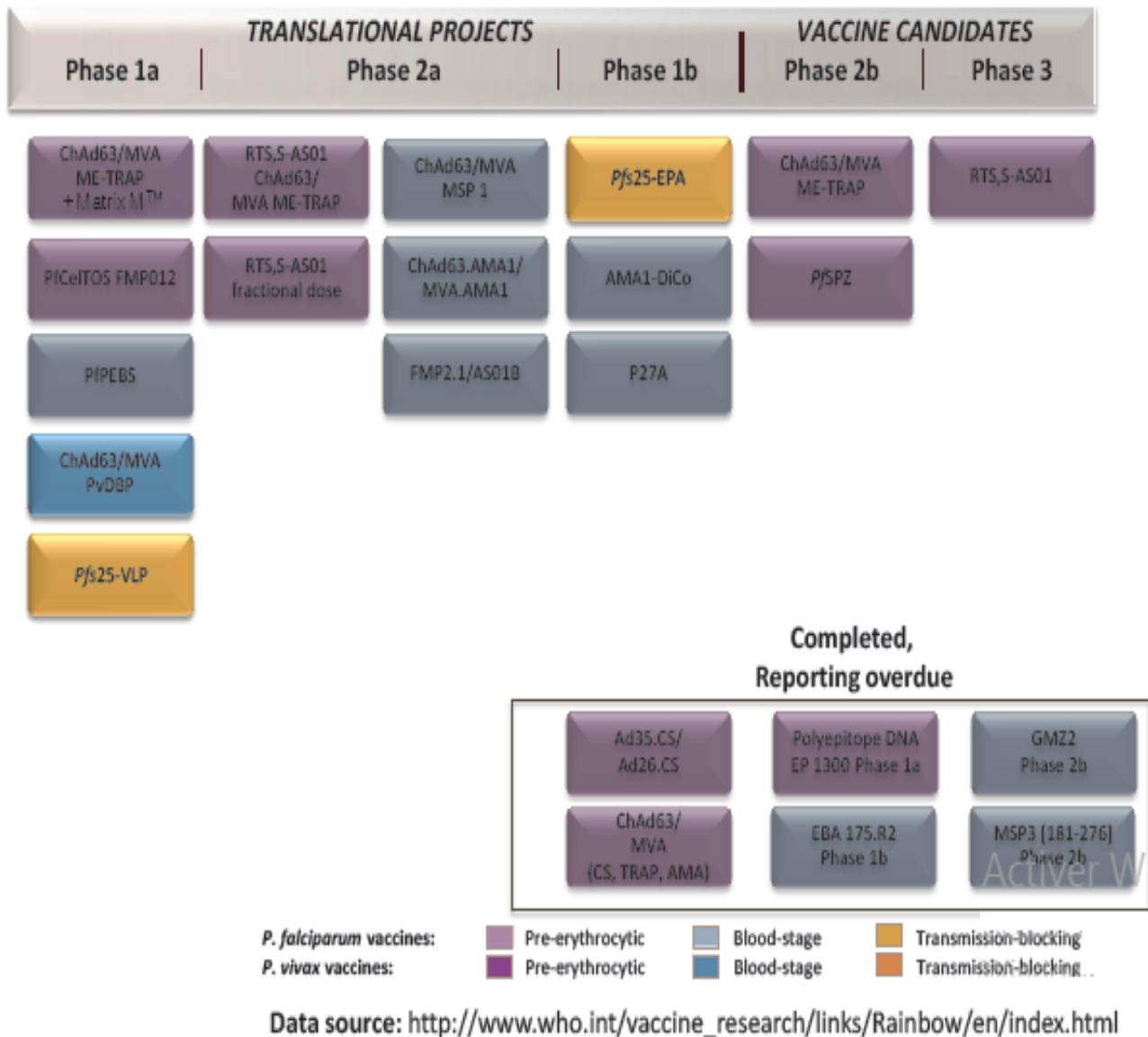


FIGURE 8: LES DIFFERENTS VACCINS ANTIPALUDIQUE EN COURS D'ETUDE.

3.6.4. Les adjuvants vaccinaux :

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

Les adjuvants sont utilisés pour améliorer l'immunogénicité et l'efficacité du vaccin en améliorant la présentation de l'antigène aux cellules immunitaires spécifiques de l'antigène dans le but de conférer une protection à long terme contre les agents pathogènes ciblés. Les adjuvants sont utilisés dans les vaccins depuis plus de 90 ans. Des combinaisons de molécules immunostimulantes, telles que celles du système adjuvant AS01, ont ouvert la voie à la mise au point de vaccins nouveaux ou améliorés (76).

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

Les adjuvants sont utilisés comme constituant des vaccins et la plupart du temps ils sont indispensables pour l'installation d'une réponse immune protectrice. L'utilisation des adjuvants dans la formulation des vaccins permet d'obtenir des taux plus élevés d'anticorps avec moins d'antigène. S'ils sont efficaces, les adjuvants ne sont pas dépourvus d'effets secondaires car ils peuvent être responsables de fièvres, d'une allergie, voire même du déclenchement de maladies auto-immunes. Les chercheurs s'emploient actuellement à utiliser des adjuvants efficaces avec moins d'effets secondaires.

3.6.4.1. Le QS-21 : Quillaja saponaria 21 (StimulonTM QS-21 Adjuvant)

Le QS-21 est un produit naturel dérivé de l'écorce de *Quillaja saponaria*, une espèce originaire du Chili et de l'Argentine. L'un des premiers adjuvants utilisés dans la formulation des vaccins pour augmenter l'immunité humorale et à médiation cellulaire. Le QS-21 est une molécule amphiphile avec une bonne hydrosolubilité. Cet adjuvant a été utilisé dans un essai de phase III d'un vaccin thérapeutique contre le mélanome à plus de 100µg par dose.

Le QS-21 a été évalué au cours d'un essai de phase I et II de 31 vaccins différents entre 25 et 100µg de QS-21 avec un bon profil de tolérance.

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

Le QS-21 a entraîné une augmentation de la protection de l'homme par les candidats vaccins recombinants antipaludiques et une stimulation des lymphocytes T cytotoxiques dans un essai de phase I(77).

La récente synthèse de molécules actives de QS-21 a fourni une méthode robuste pour produire cet adjuvant de vaccin de grande pureté ainsi que pour produire de nouveaux congénères synthétiques QS-21 conçus pour induire une réactivité immunitaire accrue et une toxicité réduite(78).

3.6.4.2. Le MPL : Monophosphoryl lipide A

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

Le MPL est un dérivé du Lipopolysaccharide (LPS) de *Salmonella minnesota* R595, qui conserve la partie lipidique A immunologiquement active de la molécule mère. Utilisé dans la formulation des vaccins, le MPL est généralement utilisé avec un véhicule (émulsion huile dans eau) qui donne une liaison étroite avec l'antigène, ce qui augmente son activité.

Le MPL est soluble dans l'eau et dans l'huile, mais cette solubilité est significativement diminuée en présence des cations métalliques divalents. Des essais cliniques de phase I/II ont montré que le MPL est bien toléré.

3.6.4.3. Alhydrogel® :

L'Alhydrogel est composé de sels d'hydroxyde d'aluminium $Al(OH)_3$.

C'est un adjuvant couramment utilisé dans la recherche immunologique. La procédure consiste à adsorber l'antigène sur le gel d'hydroxyde d'aluminium afin de permettre une présentation optimale des antigènes aux cellules présentatrice d'antigène et améliorer ainsi la réponse immunitaire aux vaccins.

Les sels d'aluminium induisent de bonnes réponses de l'immunité humorale (lymphocytes B et lymphocytes Th2 CD4+). En revanche, ils induisent peu ou pas de réponses d'immunité cellulaires (lymphocytes Th1 CD8 + cytotoxiques).

3.6.4.4. AS01 :

AS01 est un système adjuvant vaccinal à base de liposomes contenant deux immunostimulants : le 3- O -désacyl-4'-monophosphoryl lipide A (MPL) et la saponine QS-21.

Les effets de AS01 sont rapides et transitoires, localisés au muscle injecté et au ganglion lymphatique drainant.

AS01 est efficace pour promouvoir les réponses immunitaires à médiation par les lymphocytes T CD4⁺ et constitue un adjuvant candidat approprié pour l'inclusion dans des vaccins ciblant des virus ou des agents pathogènes intracellulaires(76).

3.6.4.5. CPG 7909 :

Le CPG est constitué d'oligo-désoxynucléotides riches en séquences (Cytosine phosphorothioate et Guanine), que l'on trouve en quantité dans l'ADN des micro-organismes, et qui sont des agonistes du TLR9.

Ils induisent des réponses Th1 et des réponses lymphocytaires cytotoxiques.

Le CPG 7909 est fabriqué conformément aux normes des bonnes pratiques de fabrication (cGMP). CPG 7909 utilisé dans l'essai était conditionné dans des flacons stériles à dose unique de 0,08 µg à 10 mg / ml, formulés dans un tampon salin pour l'administration intramusculaire (IM).

3.6.4.6. Les diluants : PBS et HSA

Le diluant du vaccin et du Challenge PfSPZ est composé d'une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) et de l'albumine de sérum humain (HSA).

Le PBS utilise a été fabriqué dans le respect des bpf (gmp) par sanaria, inc.

Le PBS et la HSA sont stockés à la température ambiante selon les spécifications (entre 15°C à 30°C).

3.6.4.7. Saline : chlorure de sodium

Le chlorure de sodium est utilisé à 0,9%, USP. Il s'agit d'une solution stérile, non pyrogène et isotonique. Chaque 1 ml contient 9 mg de chlorure de sodium.

Il ne contient aucun bactéricide, agent antimicrobien ou tampon ajouté.il est utilisé pour diluer ou dissoudre les médicaments pour injection ; il peut être utilisé comme placebo dans certains essais ou un vaccin comparateur n'est pas disponible. Le Saline, chlorure de sodium 0,9%, USP ne contient aucun agent de conservation.

3.7. Le Produit de l'étude :

Vaccin PfSPZ

Le vaccin dénommé Vaccin PfSPZ contient des sporozoïtes de *P. falciparum* NF54 (PfSPZ) atténué par irradiation, aseptiques, en flacons, purifiés, cryoconservés, produits par Sanaria Inc. est fabriqué en conformité avec les réglementations en matière de Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) (21 Code of Federal Regulations [CFR] 211), qui est décrit en détail dans IND 13969.

La fabrication du Vaccin PfSPZ est effectuée à l'usine clinique de fabrication de Sanaria (CMF) à Rockville, Maryland, Etats Unis. La fabrication du Vaccin PfSPZ est un processus aseptique qui comprend des essais en cours de fabrication selon USP <71> aux tests de stérilité. En bref, la fabrication comprend la désinfection des œufs de moustiques effectués par l'exposition à des agents chimiques. Les œufs désinfectés sontensemencés dans des flacons ventilés contenant un milieu de croissance. Les œufs éclosent et se développent en nymphes, qui sont transférées dans une cage d'éclosion où les moustiques adultes émergent. La culture *in vitro* de *P. falciparum* est lancée à partir d'une banque de cellules de travail (WCB) en flacon de *P. falciparum* isolé de NF54, qui est décrit en détail dans Biological Master File BMF 13489.

Les stades parasitaires asexués sont incités à produire des gamétocytes. Les moustiques adultes sont nourris de sang infecté de gamétocytes de *P. falciparum* dans un insectarium de haute sécurité à Rockville, Maryland, Etats Unis. Le sang infecté de gamétocytes de *P. falciparum*. Les moustiques adultes infectés sont maintenus et les sporozoïtes migrent vers les glandes salivaires dans les 2 semaines à partir du moment du repas infecté. Les PfSPZ dans les glandes salivaires du moustique sont atténués par irradiation à 150 Gy. Les glandes salivaires des moustiques infectés par les sporozoïtes de *P. falciparum* sont récoltées par la dissection manuelle. Les glandes salivaires sont ensuite triturées pour libérer les PfSPZ qui sont ensuite purifiés, comptés et à une concentration spécifiée, cryoconservés. La cryoconservation commence par l'addition cryoprotecteurs supplémentaires pour le produit en vrac PfSPZ pour produire le produit final du vaccin PfSPZ.

Le produit final est distribué dans des flacons à bouchon à vis qui sont stockés dans un liquide en phase vapeur d'azote (LNVP) à -150°C à -196°C.



MATERIELS ET METHODES

4. METHODOLOGIE :

4.1. Lieu d'étude :

L'étude s'est déroulée dans la commune rurale de Ouelessebougu. L'actuelle commune de Ouelessebougu a été créée sur une vieille contrée. Cette contrée de Ouelessebougu a été créée au 18ème siècle (vers 1700) par un cultivateur du nom de Wéressé. A l'origine elle n'était qu'un simple hameau de culture en bordure du marigot qui le traverse d'Ouest en Est. Avec les déformations linguistiques ce nom est devenu Wélessé d'où l'appellation : Ouelessebougu «la case de Wélessé ».

4.1.2. Situation :

Ouelessebougu est le nom d'une région subsaharienne au Mali, en Afrique de l'Ouest. Située dans la partie sud-ouest du pays, à environ 80 km de Bamako sur la route nationale N°7 (RN-7), la commune rurale de Ouelessebougu compte 44 villages couvrant environ 1.118 kilomètres carrés. Elle est limitée au Nord par la commune de Dialakoroba, au Sud par la commune de Kéléya, à l'Est par la commune de Sanankoro Djitoumou et à l'Ouest par la commune de Faraba.

Son relief est dominé par de petites élévations de faible altitude ne dépassant pas 100 m et des plateaux latéritiques.

4.1.3. Population :

La Commune rurale de Ouelessebougu comptait environ 266513 habitants en 2018(6) à dominance jeune. Le taux de natalité est élevé et le taux de mortalité l'est moins grâce à l'action dynamique des services de santé. Un Centre de Santé de Référence et quatre CSCOMs concourant pour l'atteinte des objectifs du PRODESS. La population est composée de : Bamanans et Manikas en majorité. Il y a aussi des Korokos, des Dogons, des Mossis, des Peulhs. Ces différentes ethnies vivent en parfaite harmonie avec les Bamanans autochtones qu'ils appellent « Diatiguis ». Les principales religions pratiquées sont l'Islam, le Christianisme et l'Animisme avec un taux de 90% de musulmans, 2% de protestants, 7% de catholiques et 1% d'animistes.

4.1.4. Activités socio-économiques et culturelles :

L'agriculture et l'élevage constituent les principales activités. L'artisanat et le commerce sont également développés. La pêche est pratiquée le long du fleuve Niger. Elle est l'activité principale des Bozos, des Somonos et d'autres ethnies riveraines du fleuve.

4.1.5. Climat et hydrographie :

Le climat est de type soudanais. Deux saisons déterminent son climat : la saison sèche Novembre pour finir Juin avec des températures variant entre 30 et 38°C ; la saison pluvieuse qui s'étend de Juin à Octobre avec des précipitations atteignant 1.000 mm en moyenne. Les parties Ouest et Sud de cette commune sont irriguées par le fleuve Niger et son affluent le Sankarani. Il existe également de nombreux marigots généralement secs en saison sèche.

4.1.6. Infrastructures et équipements :

Sur le plan administratif on peut citer entre autres : la sous-préfecture, la Mairie, la Gendarmerie Nationale, la Douane, la Poste, l'Energie du Mali (EDM), la société malienne de gestion de l'eau potable (SOMAGEP), la Banque Nationale de Développement Agricole du Mali (BNDA), l'Office de la Haute Vallée du Niger (OHVN), les sociétés de télécommunication : SOTELMA-Malitel et Orange-Mali et le Tribunal de Justice de Paix à Compétence Étendue.

La commune compte aujourd'hui 32 écoles publiques dont 16 premiers cycles, six seconds cycles, 16 écoles communautaires, quatre écoles privées, trois medersas et une école de santé privée en plus de trois lycées dont un public dans le village même de Ouelessebougu.

Sur le plan sanitaire, le district sanitaire de la commune rurale de Ouelessebougu compte 16 aires de santé. La ville de Ouelessebougu comporte un Centre de Santé de Référence (CSRéf), un Centre de Santé Communautaire (CSCoM), trois cliniques privées et deux officines de Pharmacie.

Les activités de l'étude se sont déroulées au Centre de Santé Communautaire (CSCoM) central de Ouelessebougu hébergeant le centre de recherche du MRTC qui mène depuis 2006 des études sur le paludisme et d'autres maladies infectieuses.

Situé dans la zone administrative de la ville, le CSCoM est composé d'un bloc comprenant : un bureau de consultations externes, une salle de dépôt de vente des médicaments, une salle de soins, une salle d'observation, deux salles de garde, une salle d'accouchement, deux salles de CPN, deux blocs réservés aux activités du centre de recherche MRTC, un bloc de quatre WC et une toilette, une buanderie, un incinérateur. Le CSCoM est dirigé par un docteur en médecine qui travaille en étroite collaboration avec une sage-femme, une infirmière obstétricienne, trois matrones, une technicienne de santé, un aide-soignant vaccinateur, un gérant du dépôt de vente des médicaments essentiels, un manoeuvre et un gardien.

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

L'équipe est composée de médecins, de pharmaciens, des biologistes, des sages-femmes des infirmiers, des gestionnaires de données et des étudiants et stagiaires ainsi que du personnel de soutien (chauffeurs, guides, manœuvres, gardiens, etc..) résidents sur le site. L'équipe travaille en étroite collaboration avec le centre de santé communautaire et le centre de santé du district de Ouelessebougou.

A Ouelessebougou la transmission du paludisme est fortement saisonnière, la saison de transmission se déroule de juin à décembre, avec un pic de transmission d'août à novembre. Ouelessebougou est située dans une zone de forte transmission, avec des taux d'inoculation entomologique d'environ sept piqûres infectieuses par personne sur la période d'août à décembre en utilisant des pièges lumineux CDC(79). La prévalence du parasite du paludisme pendant la saison de transmission varie entre 20 et 30% chez les adultes (données non publiées).



FIGURE 9: CARTE DU MALI MONTRANT OUELESSEBOUGOU.

Source : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Ouelessebougou>.

4.2. Schéma de l'étude :

Cette étude a inclus des adultes maliens en bonne santé âgés de 18 à 35 ans pour participer à un essai randomisé, double aveugle, contrôlé par placebo pour évaluer l'innocuité, l'immunogénicité et l'efficacité protectrice d'une dose de vaccin contre le paludisme pendant la deuxième saison de transmission. Les participants ont été vaccinés avec une série de 3 doses de vaccin PfSPZ 9×10^5 (sporozoïtes de *P. falciparum* atténués, cryoconservés en IVD) à 0, 8 et 16 semaines d'intervalle (bras 1) ou 0, 1 et 4 semaines d'intervalle (bras 2) à partir de la saison sèche. Les sujets vaccinés et les témoins ont été ensuite évalués pour l'infection palustre au cours de la saison de transmission du paludisme qui s'ensuit. Les volontaires ont été randomisés en quatre bras. Les bras 1 et 3a (témoin du bras 1) ont été randomisés en premier en un ratio 2 :1. Les bras 2 et 3b (témoin du bras 2) ont été randomisés en ratio 2 :1 quelques semaines après.

Effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouelessebougu, Mali.

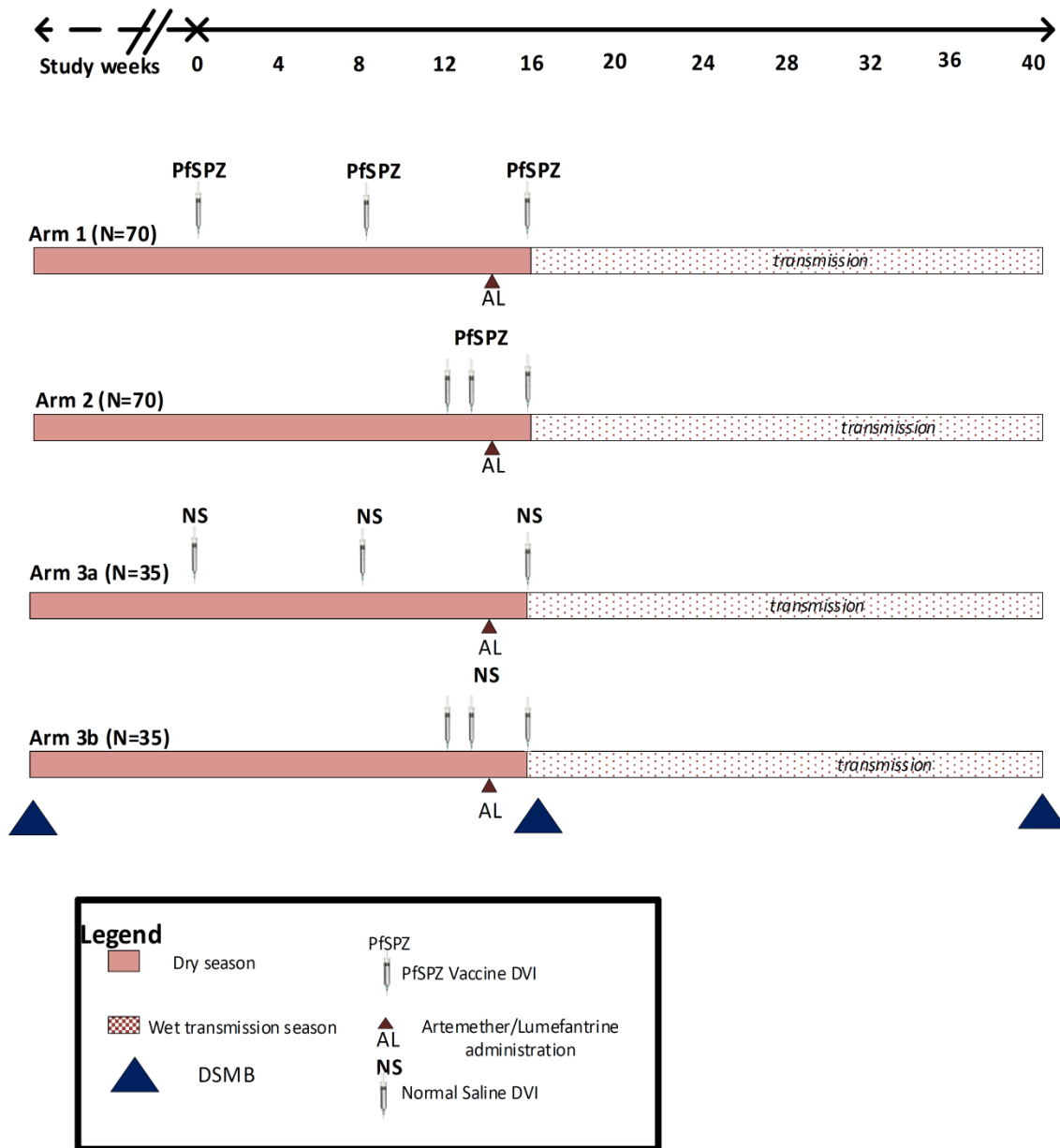


FIGURE 10: SCHEMA DE L'ETUDE.

4.2.1. Les groupes de l'étude

Les bras de traitement

Bras 1 : (n=70) ont reçu 3 doses du Vaccin PfSPZ (9.105) en IVD à 0, 8, et 16 semaines.

Bras 2 : (n=70) ont reçu 3 doses du Vaccin PfSPZ (9.105) en IVD à 0, 1, et 4 semaines.

Bras 3a : (n=35) : a été le témoin pour le bras 1. Les volontaires ont reçu 3 doses de solution saline de placebo par IVD à 0, 8 et 16 semaines.

Bras 3b : (n=35) : a été le témoin pour le bras 2. Les volontaires ont reçu 3 doses de solution saline de placebo par IVD à 0, 1 et 4 semaines.

Toutes les injections ont été administrées en IVD. Tous les volontaires ont reçu un traitement antipaludique avec de l'artéméther/luméfantrine (AL) deux semaines avant la 3ème vaccination. Après la troisième vaccination, les participants ont été suivis pendant la saison des pluies, soit environ six mois. Les participants ont été surveillés pour la sécurité, l'immunogénicité, l'infection palustre et les maladies au cours de la période de suivi.

4.3. Période d'étude :

L'étude s'est déroulée d'Avril 2018 à Avril 2020 et la vaccination de rappel a été faite en juillet 2019.

4.4. Population d'étude :

La population d'étude était composée de sujets en bonne santé âgés de 18-35 ans, qui résident à Ouelessebougou et dans les villages environnants au Mali.

4.5. Echantillonnage :

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

4.6. Calcul de la taille de l'échantillon :

La taille de l'échantillon est principalement basée sur l'évaluation de l'efficacité vaccinale (EV). Soixante-dix sujets étaient enrôlés dans chaque bras. Avec un taux d'abandon annuel estimé entre 15% et 28%, il y aura 50 à 60 sujets disponibles pour l'évaluation de l'efficacité un an après le début de l'étude. Avec 50 échantillons par bras, l'étude est capable de détecter l'efficacité protectrice du vaccin avec 88% de puissance si l'EV est de 45% et le taux d'infection de base est de 0,7.

Avec 60 échantillons par bras, l'étude a 83% de puissance si l'EV est de 45% et le taux d'infection de base est de 0,6.

4.7. Recrutement :

Le consentement communautaire a été sollicité avec les autorités villageoises et d'autres membres de la communauté après explication et discussion de l'étude lors d'une rencontre de la communauté.

Une annonce générale invitant les membres du ménage et de la famille à la clinique pour en apprendre davantage sur l'étude a été faite au moment de l'autorisation de la communauté, en utilisant la radio locale ou un canal de communication traditionnelle.

4.8. Critères d'inclusion :

Les sujets devraient remplir tous les critères suivants pour être admissibles à l'étude :

1. Etre âgé ≥ 18 et 35 ans.
 2. Etre capable de fournir une preuve d'identité à la satisfaction du clinicien d'étude qui achève le processus d'inclusion.
 3. Etre en bonne santé générale et sans antécédents médicaux cliniquement significatifs.
 4. Etre prêt à avoir des échantillons de sang stockés pour la recherche future.
 5. Etre disponible pour toute la durée de l'étude.
 6. Les femmes qui ont le potentiel de procréer doivent être prêtes à utiliser une contraception fiable (tel que défini ci-dessous) à partir de 21 jours avant le jour 1 d'étude à 28 jours après la dernière vaccination.
- Des méthodes fiables de contrôle des naissances comprennent :
 - **Un** des éléments suivants : des contraceptifs pharmacologiques confirmés (parentérales) délivrés ; un dispositif intra-utérin ou implantable. **OÙ**
 - **Deux** des éléments suivants : des contraceptifs oraux ou transdermiques ou vaginaux documentés ; **PLUS** des préservatifs avec un spermicide ou un diaphragme avec un spermicide
 - **Remarque-** Coartem (artéméter en particulier) peut réduire l'efficacité des contraceptifs hormonaux systémiques, par conséquent, des méthodes de barrière supplémentaires telles que les préservatifs doivent également être utilisés pendant les 3 jours de la posologie de Coartem.
 - On demandera également aux femmes qui ne peuvent pas tomber enceinte de déclarer la dernière date de la période menstruelle, l'histoire de la stérilité chirurgicale (i.e. ligature des trompes, l'hystérectomie) ou insuffisance ovarienne prématurée (POI), et auront un test d'urine ou un test de grossesse sérique effectué selon le protocole.

4.9. Critères de non inclusion :

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

1. Grossesse, telle que déterminée par un échantillon d'urine positif ou un test choriogonadotropine sérique humaine (β -hCG) (si c'est une femme).

NOTE : La grossesse est également un critère pour l'arrêt de tout dosage supplémentaire ou de toutes les interventions liées à l'insécurité pour ce sujet.

2. Actuellement allaitante (si c'est une femme).

3. Une maladie comportementale, cognitive ou psychiatrique qui, de l'avis du chercheur affecte la capacité du participant de comprendre et de se conformer au protocole de l'étude.

4. L'hémoglobine, WBC, les neutrophiles et les plaquettes en dehors des limites normales définies par le laboratoire local (les sujets peuvent être inclus à la discrétion du chercheur pour les valeurs « pas cliniquement significatives »).

5. Le niveau de l'Alanine transaminase (ALT) ou de la créatinine (Cr) au-dessus de la limite normale supérieure définie par le laboratoire locale (les sujets peuvent être inclus à la discrétion du chercheur pour les valeurs « pas cliniquement significatives »).

6. Infecté par le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH), l'hépatite C (VHC), ou l'hépatite B (VHB).

7. La drépanocytose connue et documentée par interrogatoire (Remarque : le trait drépanocytaire connu n'entraîne pas une exclusion).

8. Anomalie de l'ECG cliniquement significative tel qu'un QTc anormal.

9. Preuve d'antécédent de maladie neurologique, cardiaque, pulmonaire, hépatique, endocrinienne, rhumatologique, auto-immune, hématologique, oncologique ou rénale cliniquement significative, l'examen physique, et / ou des études de laboratoire, y compris l'analyse de l'urine.

10. Antécédent de prise d'un produit expérimental au cours des 30 derniers jours.

11. La participation ou la participation prévue à un essai clinique avec un produit expérimental avant l'achèvement de la visite de suivi 28 jours après la dernière vaccination ou la participation prévue à une étude de vaccin expérimental jusqu'à la dernière visite requise du protocole.

12. Les problèmes médicaux, professionnels ou de famille à la suite de consommation d'alcool ou de drogues illicites au cours des 12 derniers mois.

13. Antécédent d'une réaction allergique sévère (grade 3 ou plus, ou par discrétion du PI) ou choc anaphylactique.

14. L'asthme sévère (défini comme l'asthme qui est instable ou des soins émergents, des soins d'urgence, l'hospitalisation ou l'intubation sont requis au cours des 2 dernières années, ou qui a nécessité l'utilisation de corticostéroïdes par voie orale ou parentérale à tout moment au cours des 2 dernières années).

15. Les maladies auto-immunes préexistantes ou à médiation par anticorps, y compris, mais sans s'y limiter : au lupus érythémateux disséminé, à la polyarthrite rhumatoïde, à la sclérose en plaques, au syndrome de Sjögren, ou à la thrombocytopénie auto-immune.

16. Le syndrome d'immunodéficience connu.

17. L'asplénie connue ou l'asplénie fonctionnelle.

18. Utilisation de :

- Corticostéroïdes (≥ 14 jours) par voie orale ou intraveineuse de façon chronique (à l'exclusion de la voie topique ou nasale) à des doses immunosuppresseurs (par exemple, prednisone $> 10\text{mg} / \text{jour}$) ou des médicaments immunosuppresseurs dans les 30 jours suivant la vaccination.
- L'utilisation d'antipaludiques (autres que ceux prescrits par le chercheur) ou des antibiotiques systémiques avec une activité antipaludique connue au cours des 30 jours avant le premier vaccin (comme la triméthoprime-sulfaméthoxazole, la doxycycline, la tétracycline, la clindamycine, l'érythromycine, les fluoroquinolones ou l'azithromycine).

19. La réception d'un vaccin vivant au cours des 4 dernières semaines ou d'un vaccin inactivé au cours des 2 dernières semaines avant la vaccination # 1 et chaque jour de vaccination ultérieure.

20. La prise des produits immunoglobulines et / ou sanguins au cours des 6 derniers mois.

21. La réception précédente d'un vaccin expérimental contre le paludisme au cours des 5 dernières années.

22. Les allergies connus ou une contre-indication à Coartem.

23. Autre (s) condition (s) qui, de l'avis du chercheur, mettrait (ent) en péril la sécurité ou les droits d'un sujet participant à l'essai, interfère avec l'évaluation des objectifs de l'étude, ou rendrait (ent) le sujet incapable de se conformer au protocole.

4.10. Programme de l'étude :

4.10.1. Dépistage :

Le but de la visite de dépistage était de déterminer l'éligibilité du sujet pour sa participation à l'étude. Les procédures de dépistage comprennent le processus de consentement éclairé, l'examen de compréhension du paludisme, les évaluations de laboratoire (complété au cours des 56 jours avant la réception de la première vaccination) et les évaluations cliniques. Les activités de dépistage peuvent avoir lieu au cours de plusieurs visites si nécessaire, y compris le jour de l'inclusion.

Dans le cas où une maladie chronique et / ou le VIH, le VHB ou le VHC sont découverts au cours du dépistage, l'étude ne remboursera pas les traitements et les soins à long terme, mais les patients peuvent être orientés vers des soins continus.

Selon les exigences nationales de déclaration des maladies transmissibles, les résultats positifs confirmés pour le VIH, le VHB et le VHC seront signalés au service de santé locale conformément aux lois applicables et des recommandations médicales appropriées seront initiées. Les actions suivantes doivent être effectuées dans le cadre du processus de dépistage pour toutes les personnes dans les 56 jours précédant la première vaccination :

- Expliquer l'étude et le document de consentement éclairé au sujet.
- Assurez-vous que le sujet a donné son consentement en signant ou en posant ses empreintes digitales sur le document de consentement éclairé. Assurez-vous que le sujet reçoit une copie signée du consentement éclairé.
- Assurez-vous que le sujet a répondu correctement à 80% des questions de l'examen sur la compréhension du paludisme.
- Obtenir des antécédents médicaux complets, y compris les antécédents menstruels et contraceptifs et / ou antécédents de stérilité chirurgicale pour les femmes, et l'utilisation de médicaments.
- Assurez-vous que les femmes en âge de procréer sont prêtes à utiliser une méthode de contraception fiable depuis au moins la période allant du dépistage jusqu'à 28 jours après la troisième vaccination.
- Administrer un examen physique complet, y compris les signes vitaux (taille, poids, tension artérielle, température et fréquence cardiaque).
- Counseling pré et post test complet du VIH comme indiqué, y compris le contact de suivi avec le sujet pour rapporter les résultats et le référer pour des soins médicaux appropriés si nécessaire.

- Obtenir environ 10 ml de sang pour la numération formule sanguine (NFS) différentielle et la numération des plaquettes, ALT, la créatinine (Cr), le test de l'hépatite B, le test de l'hépatite C, le test VIH, le test d'hémoglobinopathie.
- Obtenir l'urine (ou du sérum) pour les tests de grossesse (pour les femmes) et une bandelette urinaire / urine pour la détection des protéines et de sang dans les urines.
- Obtenir un électrocardiogramme (ECG) à 12 dérivations.

Le test de drépanocytose sera complété rétrospectivement. L'antécédent de la maladie de drépanocytaire connue est une raison de non inclusion au moment de l'inclusion.

La découverte de la drépanocytose (HbSS) lors de tests de laboratoire ultérieurs n'entraînera pas le retrait du sujet de l'étude.

L'éligibilité finale sera déterminée à ce stade. Le sujet peut être exclu par l'une des procédures ci-dessus s'il répond aux critères de non inclusion. Les plages acceptables pour les paramètres hématologiques et biochimiques définies pour cette étude sont données à l'**Annexe B. (Remarque : la parasitémie n'est pas un critère de non inclusion.)**

Si un résultat anormal est jugé cliniquement significatif, le sujet sera informé, une lettre de référence sera écrite et le sujet sera guidé vers l'endroit où il doit se présenter pour un complément de visite et des soins médicaux. Le traitement pour des affections mineures peut être fourni par des cliniciens d'étude sur le site d'étude. Les décisions de ne pas inclure le sujet dans l'essai ou de retirer le sujet de l'essai seront prises à la discrétion de l'investigateur.

4.10.2. Affectation des groupes :

L'enrôlement a lieu avec la collecte des échantillons de base de l'étude à Jour -14. La randomisation a eu lieu avant l'enrôlement, avant ou après le jour -14 de l'étude. La randomisation des sujets dans les **bras 1 et 3a** a été faite d'abord car ces sujets ont été enrôlés en premier. La randomisation des **bras 2 et 3b** a été faite ensemble plus tard avant l'enrôlement.

Si un sujet a été randomisé dans le **groupe 1 ou 3a** mais n'a pas été vacciné, il peut être randomisé dans les **groupes 2 et 3b** s'il est encore éligible.

Si un sujet se retire de l'étude après la randomisation, il peut être remplacé par un autre sujet au hasard si le retrait se produit avant la première vaccination. Une fois qu'un sujet a reçu sa première vaccination, il ne peut pas être remplacé.

Pendant l'étude, la liste reliant les numéros de randomisation pour étudier le produit (Vaccin PfSPZ ou contrôle) était mise à la disposition du statisticien de l'étude et des membres de l'équipe, des préparateurs de seringues (au début de l'étude), moniteur de sécurité indépendant et le président du DSMB (si nécessaire pour un examen à huis clos sans audience). Les jours de vaccination, les vaccins associés à chaque numéro de randomisation étaient obtenus auprès du pharmacien.

Pour assurer l'identification correcte des sujets de l'étude, après l'enrôlement des sujets, tous les sujets ont reçu une carte d'identité avec leur photo à présenter à la clinique à chaque visite de l'étude.

4.11. Procédures d'étude / évaluations :

4.11.1. Tests de Laboratoire cliniques :

En utilisant des techniques standard, le laboratoire clinique effectuait les tests suivants.

1. L'hémogramme complet (NFS) plus la différenciation leucocytaire (GB) et la numération plaquettaire.

Les paramètres de NFS suivants étaient évalués pour la tolérance tout au long de l'essai : GB, nombre absolu de neutrophiles (NAN) / nombre absolu de granulocytes (NAG), hémoglobine (Hb) et numération plaquettaire.

2. Créatinine sérique (Cr)

3. Alanine aminotransférase (ALT)

4. Test HBsAg (peut inclure un diagnostic rapide, ELISA, PCR si indiqué) (seulement au dépistage)

5. Test HVC (peut inclure un diagnostic rapide, ELISA, PCR si indiqué) (seulement au dépistage)

6. Test VIH (peut inclure un diagnostic rapide, ELISA, Western Blot si indiqué) (seulement au dépistage)

7. Test avec bandelettes urinaire et / ou analyse d'urine (seulement au dépistage)

8. Test de grossesse à partir des urines et / ou sérum (β -hCG)

Les tests cliniques supplémentaires comprenaient les éléments suivants, mais étaient complétés rétrospectivement par d'autres laboratoires, comme indiqué ci-dessous :

1. Test d'hémoglobinopathie – testé pour l'hémoglobine normale adulte (HbAA), du trait de l'hémoglobine c (HbCC), du trait de l'hémoglobine drépanocytaire (HbAS), de l'hémoglobine drépanocytaire (HbSS).

4.11.2. Diagnostic du paludisme :

4.11.2.1. Goutte épaisse pour le diagnostic du paludisme :

Le standard pour le diagnostic du paludisme et l'évaluation des critères de jugement de l'efficacité du vaccin est la détection des parasites du paludisme sur les gouttes épaisses colorées au Giemsa. Les gouttes épaisses sont préparées en deux exemplaires selon les procédures standard du challenge paludisme et évaluées par des microscopistes formés pour l'étude, et les résultats sont rapportés au chercheur principal de l'étude. Au moins 0,5 µL sont analysés pour détecter la présence de parasites du paludisme.

Cette méthode permet de détecter une densité parasitaire d'environ 3 parasites / µL et un diagnostic précoce, souvent avant que les sujets ne deviennent symptomatiques du paludisme. Pour les sujets symptomatiques, au moins 1,5 µl sont évalués. Les lames sont considérées comme positives si au moins deux parasites *P. falciparum* sans ambiguïtés par lame sont identifiés et confirmés par un second microscopiste.

Les gouttes épaisses étaient préparées à partir du sang restant dans la canule intraveineuse, ou (à des moments où aucune ne collecte de sang IV n'est prévue) à partir d'un échantillon prélevé par piqûre au doigt. Les gouttes épaisses étaient examinées au microscope.

Les gouttes épaisses étaient utilisées pour le diagnostic tout au long de l'étude.

4.11.2.2. Visites imprévues et goutte épaisse positives :

Chaque fois qu'un sujet a été dépisté des parasites du paludisme à *P. falciparum* sur une goutte épaisse (si oui ou non ils étaient symptomatiques, visite prévues ou non imprévues), il était demandé à la clinique de fournir un échantillon de sang supplémentaire pour ce qui suit :

- 0,5 ml de microtenseur d'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) : pour les analyses ex vivo du sang total si l'échantillon n'a pas été obtenu au cours des deux derniers jours avec la goutte épaisse positive.

- Tube EDTA de 4 ml : pour obtenir l'ARN et l'ADN pour l'étude du transcriptome (ARN) de l'hôte et du parasite (ARN) et le génotype du parasite (ADN) et pour obtenir du plasma pour des études de protéomique.
- 0,5 ml pour qPCR si l'échantillon n'a pas été obtenu au cours des deux derniers jours avec une goutte épaisse positive.

4.11.2.3. Etude immunologique :

Le but est d'évaluer l'effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) durant la saison de transmission naturelle sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouelessebougou, Mali.

4.11.2.4. Analyse des réponses cellulaires :

Les études des réponses cellulaires ont été réalisées au MRTC en utilisant du sang total pour énumérer les différents sous-ensembles de cellules T mémoires (CD4, CD8) avant et après la vaccination de rappel par la cytométrie en flux.

✓ Principe de la cytométrie en flux

La cytométrie en flux est une technique multiparamétrique permettant l'étude de plusieurs caractéristiques (taille, complexité, et fluorescence) d'une cellule isolée entraînée par un flux liquide.

Les cellules marquées aux fluorochromes sont d'abord propulsées une à une, à très grande vitesse dans un flux hydrostatique et passent devant une source lumineuse (Laser), la fluorescence issue de l'immuno marquage préalable est ensuite récupérée et mesurée grâce à un éventail de détecteurs ; et ces mesures obtenues sont utilisées pour générer des ensembles des données à paramètres multiples : les caractéristiques physiques des cellules et leurs propriétés fluorescentes, les caractéristiques de leur dispersion lumineuse frontale et latérale.

✓ **Mode opératoire**

Elle consistait à effectuer un immunomarquage sur 200µl du sang total par des anticorps fluorescents (anti- CD3-Alexa700, anti-CD8- APC H7, anti-CD4-V500, anti gd TCR-PE, anti-CD27-PE-Cy7, anti-CD45RO-BV421, anti-Vd2-FITC, anti-CD45-BV785, anti-HLADR-BV650, anti-CD19-Indo-1 (BV495), anti-CD21-BV395, anti-CD38-PerCP-Cy5.5 et anti-CCR7-Alexa Fluor 647) avant et après la vaccination de rappel selon le mode opératoire normalisé du laboratoire d'immunologie (voir annexe).

✓ **Interprétation des résultats**

Les lymphocytes T et leurs sous-ensembles étaient identifiés par l'expression différentielle de marqueurs de surface cellulaire comprenant CD4, CD8.

Effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouelessebougou, Mali.

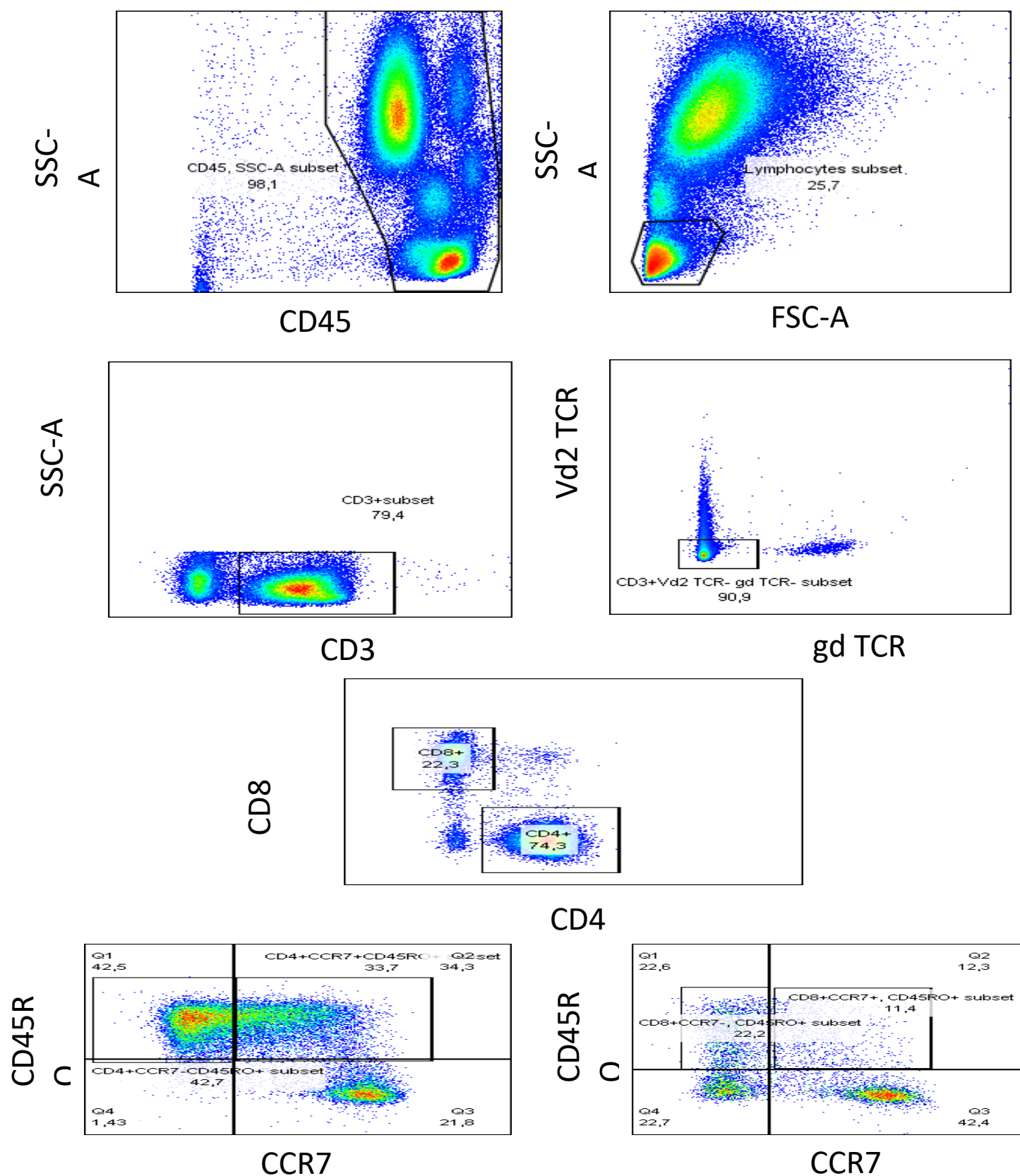


FIGURE 11: STRATEGIE D'ANALYSE D'EXPRESSION DES CELLULES T-CD8+, T-CD4+.



FIGURE 12: BD LSR FORTESSA X-20, SPECIAL ORDER RESEARCH PRODUCT.

4.11.2.5. Collecte, saisie, analyse des données :

Les données ont été recueillies dans les cahiers d'observation individuels des participants, saisies et vérifiées dans une base de données Data fax version 2.1 puis exportées sur Excel et analysées par le logiciel Prism version 8.0.1.

Le dosage des cellules T (CD4+, CD4+CCR7+CD45RO+ ; CD8+, CD8+CCR7+CD45RO+) a été fait sur le cytomètre BD FORTESSA X20 et analysé avec le logiciel Flow Jo version 10.3.0 puis sur Prism version 8.0.1.



RESULTATS

5. RESULTATS

Sur les 140 participants vaccinés dans le cadre de cette étude, l'analyse de l'immunité cellulaire était faite chez 86 participants chez qui un prélèvement veineux a été obtenu avant et après la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) durant la saison de transmission naturelle chez les adultes à Ouelessebouyou, Mali.

5.1. Les caractéristiques de base :

5.2.1. Répartition des participants selon le sexe et le groupe de traitement :

TABLEAU I: REPARTITION DES PARTICIPANTS SELON LE SEXE ET LE GROUPE DE TRAITEMENT.

	Vaccin +		
	Bras 1 n=40	Bras 2 n=46	Total n (%)
Masculin n (%)	24 (60)	31 (67,39)	55 (63,95)
Féminin n (%)	16 (40)	15 (32,61)	31 (36,05)
Total n (%)	40 (100)	46 (100)	86 (100)

Dans notre étude, 63,95% des participants étaient de sexe masculin.

5.2.2. Répartition des participants selon l'âge et le groupe de traitement :

TABLEAU II: REPARTITION DES PARTICIPANTS SELON L'AGE ET LE GROUPE DE TRAITEMENT.

	Vaccin +		Total
	Bras 1 n=40	Bras 2 n=46	
Moyenne	25,6	22,8	23,9
Min-max	18-35	18-35	18-35

L'âge moyen des participants était de 23,9 ans. L'âge minimum était de 18 ans et le maximum était de 35 ans.

5.2. Les lymphocytes T mémoires :

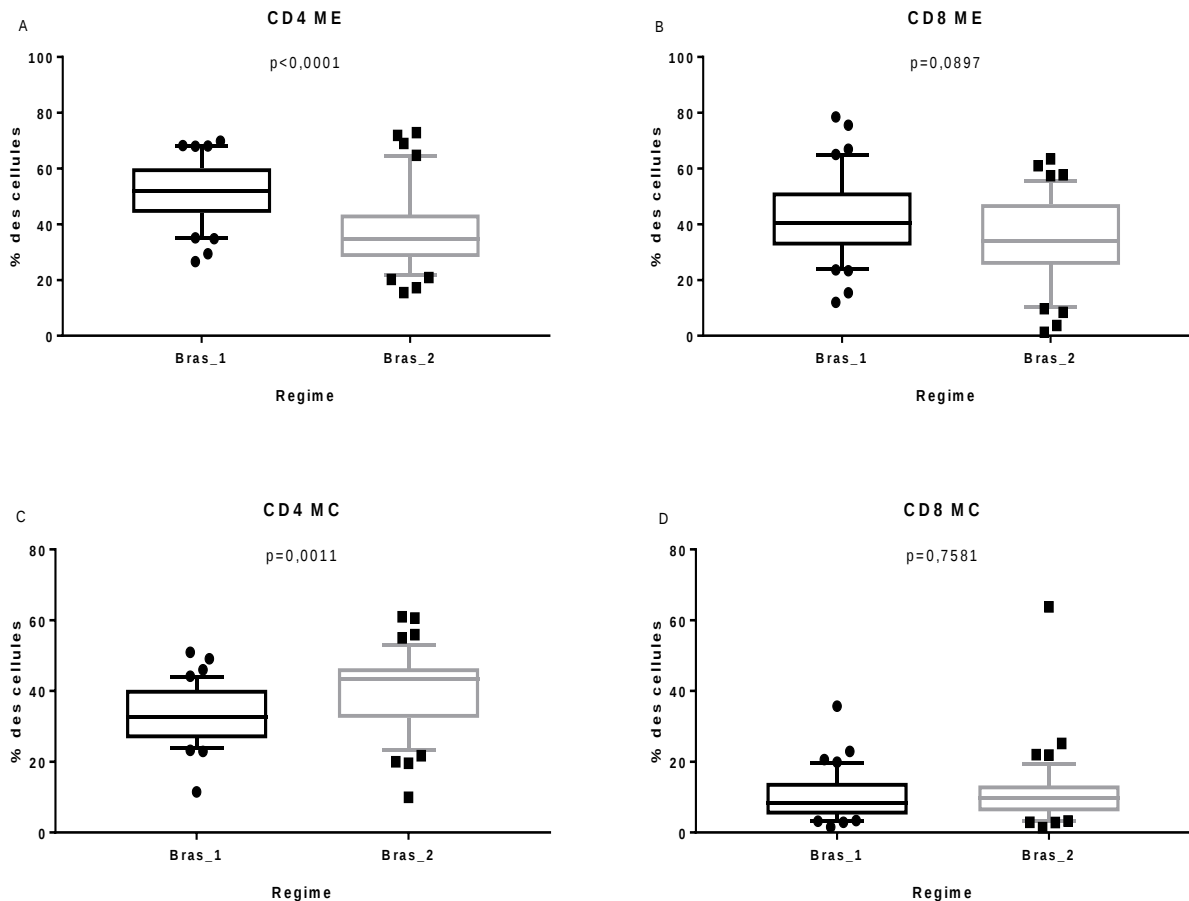


FIGURE 13: LES LYMPHOCYTES T MEMOIRES AVANT LA VACCINATION DE RAPPEL SELON LE REGIME DE VACCINATION.

Le pourcentage des lymphocytes T CD4 effecteurs mémoire (ME) était significativement plus élevé dans le bras 1 comparé au bras 2 avant la vaccination de rappel (figure 13A), $p < 0,0001$ tandis que les lymphocytes T CD8 effecteurs mémoire étaient comparables entre les deux bras (figure 13B), $p = 0,0897$.

Par contre, le pourcentage des lymphocytes T CD4 mémoires centrales (MC) était significativement plus bas dans le bras 1 comparé au bras 2 avant la vaccination de rappel (figure 13C), $p = 0,0011$ tandis que les lymphocytes T CD8 mémoires centrales étaient comparables entre les deux bras (figure 13D), $p = 0,7581$.

Effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouelessebouyou, Mali.

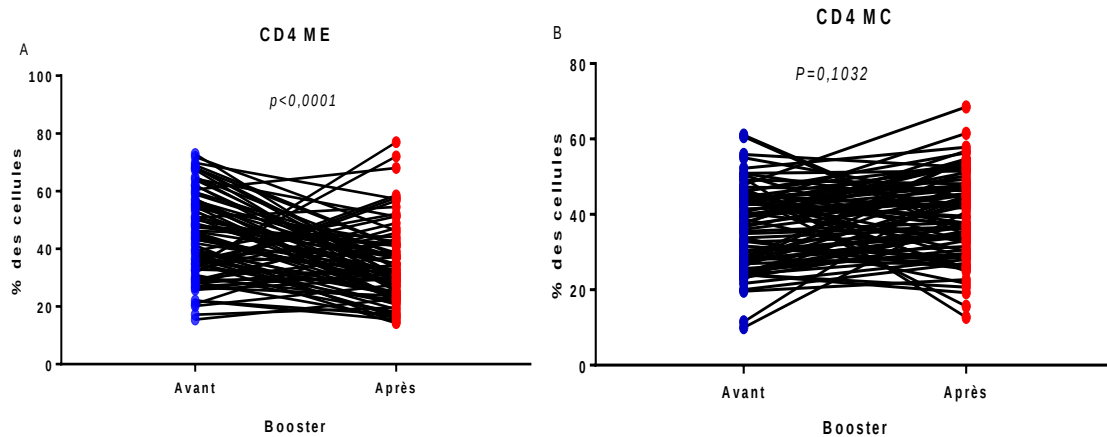


FIGURE 14: LES LYMPHOCYTES T CD4 MEMOIRES.

Le pourcentage des lymphocytes T CD4 effecteurs mémoire était significativement plus bas après la vaccination (figure 14A), $p < 0,0001$ tandis que les lymphocytes T CD4 mémoires centrales restaient similaires à leurs niveaux d'avant la vaccination de rappel (figure 14B), $p = 0,1032$.

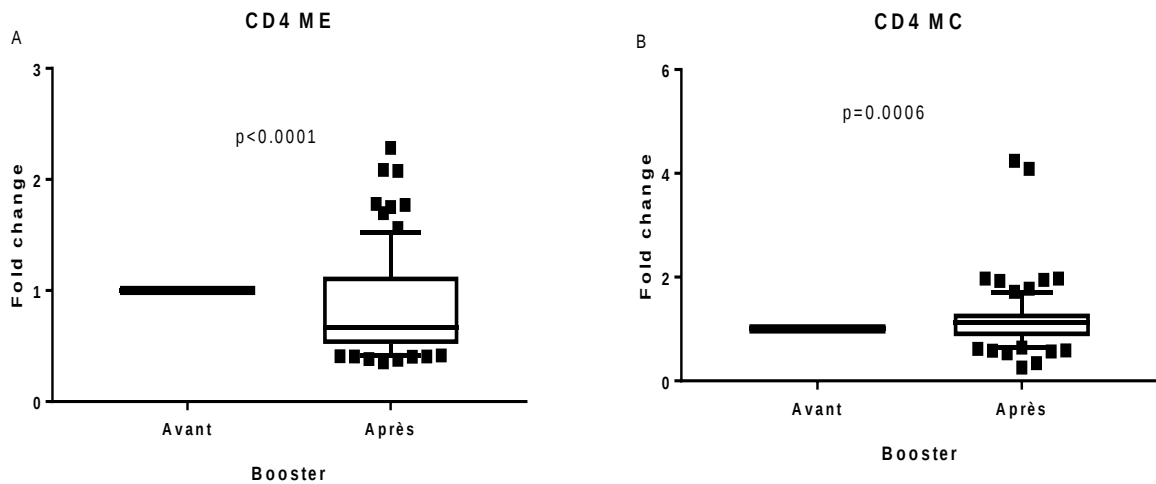


FIGURE 15: VARIATION DES NIVEAUX DE LYMPHOCYTES T CD4 MEMOIRES.

Après la vaccination de rappel, les lymphocytes T CD4 effecteurs mémoire étaient diminués de près de 33% (figure 15A), $p < 0,0001$ tandis que les lymphocytes T CD4 mémoires centrales avaient augmenté de près de 12% (figure 15B), $p = 0,0006$.

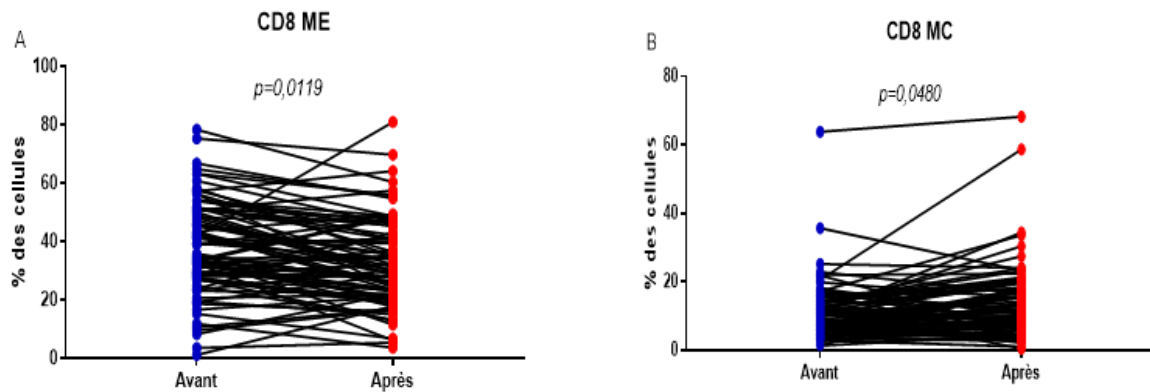


FIGURE 16: LES LYMPHOCYTES T CD8 MEMOIRES.

Le pourcentage des lymphocytes T CD8 effecteurs mémoire était significativement plus bas après la vaccination de rappel (figure 16A), $p<0,0119$ de même les lymphocytes T CD8 mémoires centrales étaient significativement plus bas comparées à leurs niveaux d'avant la vaccination de rappel (figure 16B), $p=0,0480$.

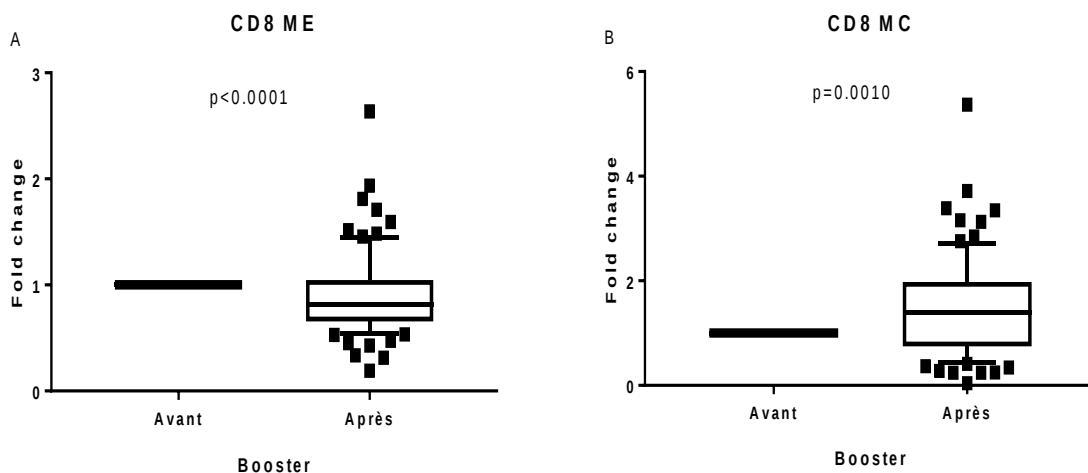


FIGURE 17: VARIATION DES NIVEAUX DE LYMPHOCYTES T CD8 MEMOIRES.

Après la vaccination de rappel, les lymphocytes T CD8 effecteurs mémoire étaient diminués de près de 18% (figure 17A), $p<0,0001$ tandis que les lymphocytes T CD8 mémoires centrales avaient augmenté de près de 39% (figure 17B), $p=0,0010$.

Effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouessèbougou, Mali.

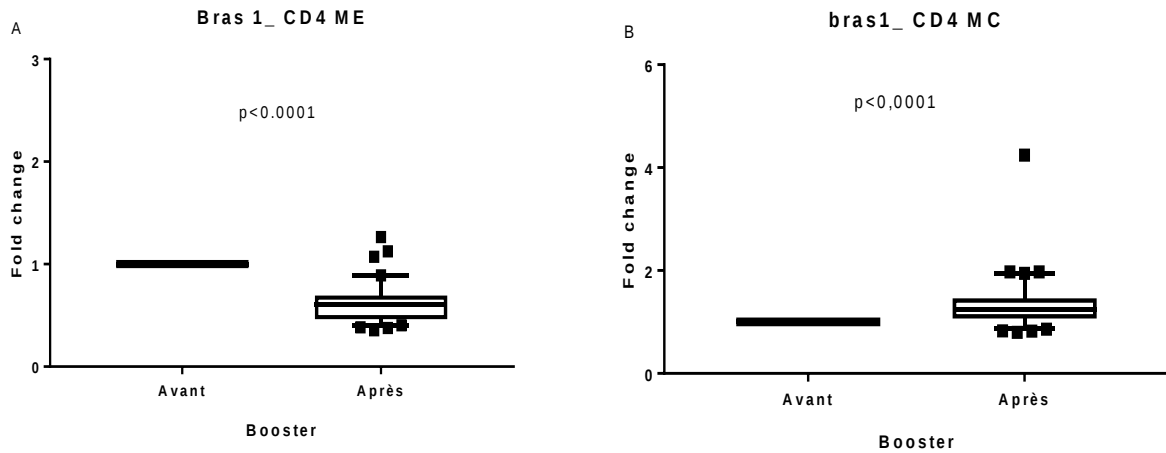


FIGURE 18: LES LYMPHOCYTES T CD4 MEMOIRES CHEZ LES SUJETS VACCINES SELON LE REGIME LONG (BRAS1).

Après la vaccination de rappel, les lymphocytes T CD4 effecteurs mémoire étaient diminués de près de 40% (figure 18A), $p < 0,0001$ tandis que les lymphocytes T CD4 mémoires centrales avaient augmenté de près de 24% (figure 18B), $p < 0,0001$.

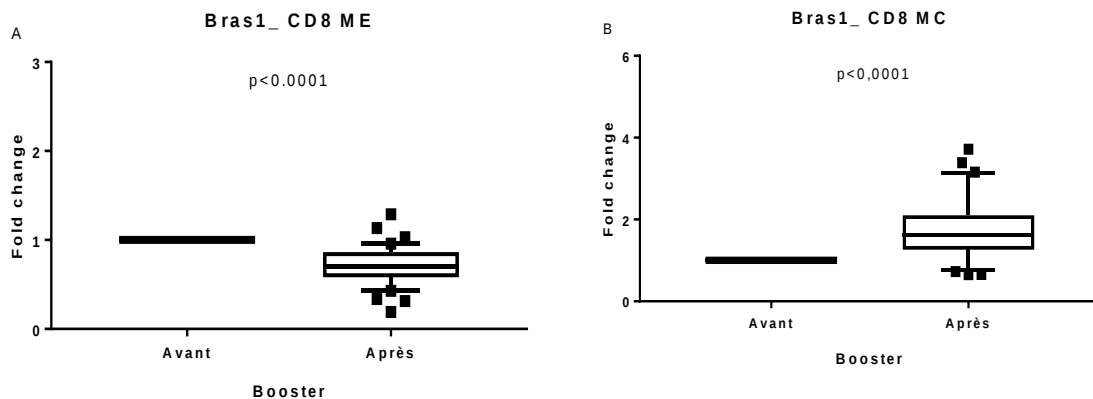


FIGURE 19: LES LYMPHOCYTES T CD8 MEMOIRES CHEZ LES SUJETS VACCINES SELON LE REGIME LONG (BRAS1).

Après la vaccination de rappel, les lymphocytes T CD8 effecteurs mémoire étaient diminués de près de 30% (figure 19A), $p < 0,0001$ tandis que les lymphocytes T CD8 mémoires centrales avaient augmenté de près de 62% (figure 19B), $p < 0,0001$.

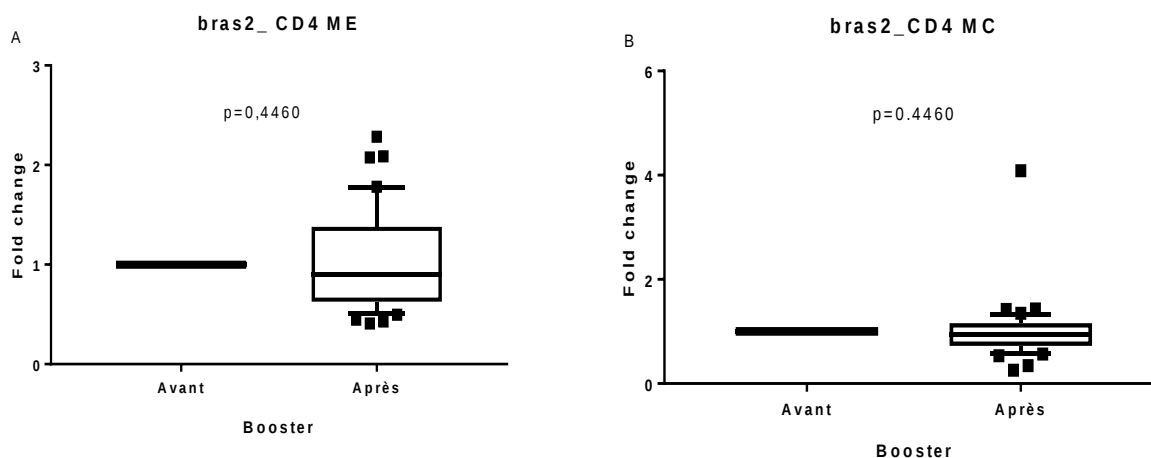


FIGURE 20: LES LYMPHOCYTES T CD4 MEMOIRES CHEZ LES SUJETS VACCINES SELON LE REGIME COURT (BRAS2).

Après la vaccination de rappel, les lymphocytes T CD4 effecteurs mémoire étaient diminués de près de 10% (figure 20A), $p < 0,4460$ tandis que les lymphocytes T CD4 mémoires centrales avaient augmenté de près de 9% (figure 20B), $p < 0,4460$.

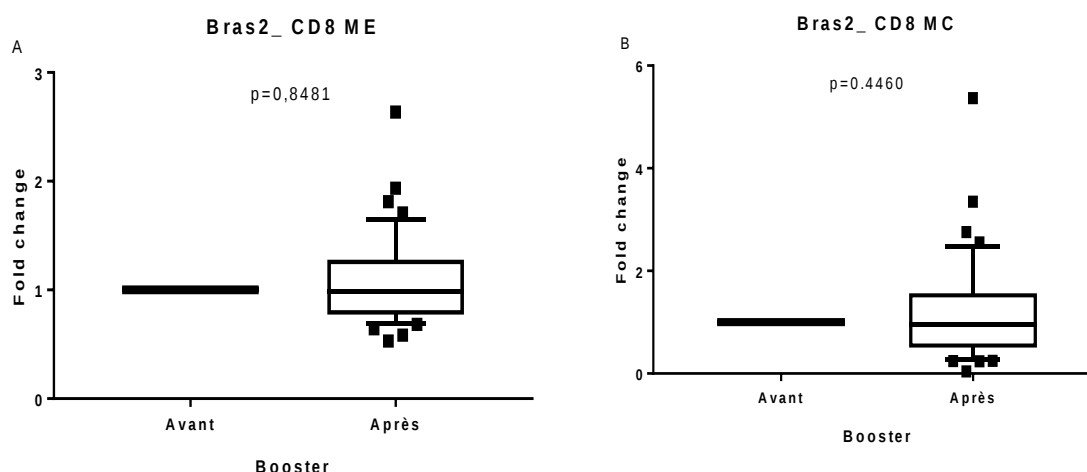


FIGURE 21: LES LYMPHOCYTES T CD8 MEMOIRES CHEZ LES SUJETS VACCINES SELON LE REGIME COURT (BRAS2).

Après la vaccination de rappel, les lymphocytes T CD8 effecteurs mémoire (figure 21A), $p < 0,8481$ étaient similaires aux lymphocytes T CD8 mémoires centrales (figure 21B), $p < 0,4460$.



COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

6. COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

Dans cette étude nous avons évalué l'effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouelessebougou, Mali.

Ouelessebougou est une zone où la transmission du paludisme est fortement saisonnière, la saison de transmission se déroule de juillet à décembre, avec un pic de transmission au mois de novembre. Ce site a fait l'objet de nombreuses études portant sur l'épidémiologie du paludisme, l'efficacité des médicaments et l'entomologie, menées par le MRTC/DEAP. L'équipe du MRTC/DEAP a établi un centre de santé et de recherche électrifié avec une connexion internet.

Il existe de très bons rapports de confiance mutuelle entre la population de ce village et l'équipe en place.

○ **Caractéristiques de base**

Un total de 86 participants adultes en bonne santé nous ont permis de faire les travaux de cette thèse. Dans notre population d'étude, 63,95% des participants étaient de sexe masculin. Cette 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. Ce résultat est similaire à ceux obtenus par DEMBELE B à Doneguebougou (80) et COULIBALY B à Sotuba (81) qui étaient de 63% et 60% respectivement pour le sexe masculin.

L'âge moyen était de 23,9 ans, ce résultat est comparable à ceux de COULIBALY B à Sotuba (28,2ans) (81) et Jongo et al à Bagamoyo en Tanzanie (24ans)(82). Sur l'ensemble des participants l'âge minimum était de 18 ans et l'âge maximum était de 34 ans.

○ **Les lymphocytes T mémoires**

Le dosage des sous populations de lymphocytes T mémoires a été fait par la cytométrie en flux juste avant et après l'administration intraveineuse de la dose de rappel chez les participants de l'étude.

- **Les lymphocytes T CD4 mémoires**

L'expression des lymphocytes T CD4 effecteurs mémoire (ME) était différente selon le régime d'administration du vaccin (Bras) au début de l'étude et est significativement plus basse chez les participants qui ont été vaccinés selon le régime court (bras 2) comparée à ceux qui ont été vaccinés selon le régime long (bras 1). Par contre nous avons trouvé que l'expression des lymphocytes T CD4 mémoires centrales (MC) étaient significativement plus élevée chez les mêmes participants du bras 2 comparée à ceux du (Bras 1) juste avant l'administration de la dose de rappel en début de la saison de transmission du paludisme.

Nous avons également observé une réduction de près de 33% des lymphocytes T CD4 effecteurs mémoire et une augmentation de plus de 12% des lymphocytes T CD4 mémoires centrales chez les participants après la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ).

Enfin nous avons également observé une réduction de près de 40% des lymphocytes T CD4 effecteurs mémoire et une augmentation de plus de 24% des lymphocytes T CD4 mémoires centrales chez les participants vaccinés selon le régime long (Bras 1) au début de l'étude. Curieusement nous n'avons pas de variation des lymphocytes T mémoires chez les participants vaccinés selon régime court (Bras 2).

- **Les lymphocytes T CD8 mémoires**

L'expression des lymphocytes T CD8 effecteurs mémoire (ME) était similaire dans les deux bras (1 et 2).

Nous avons également observé une réduction de près de 18% des lymphocytes T CD8 effecteurs à mémoire et une augmentation de plus de 39% des lymphocytes T CD8 mémoires centrales chez les participants après la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ).

Enfin nous avons également observé une réduction de près de 30% des lymphocytes T CD4 effecteurs à mémoire et une augmentation de plus de 62% des lymphocytes T CD4 mémoires centrales chez les participants vaccinés selon le régime long (Bras 1) au début de l'étude.

Curieusement nous n'avons pas de variation des lymphocytes T mémoires chez les participants vaccinés selon le régime court (Bras 2).

Ces résultats pourraient être expliqués par la prévalence du paludisme durant l'étude et par une induction de la réponse naturelle antipaludique au début de la saison de haute transmission.

En effet suite à l'élimination d'un agent pathogène, la majorité (souvent 90 à 95%) des cellules T effectrices meurent laissant derrière elles un compartiment hétérogène de cellules mémoires.

Il y a plus d'une décennie maintenant que le concept de mémoire systémique a été redéfini par la division des cellules mémoires circulantes en deux sous-ensembles distincts sur la base de : leurs fonctions effectrices, leurs capacités de prolifération et de migration(65). Les lymphocytes T centrales mémoires sont restreints aux tissus lymphoïdes secondaires et le sang alors que les lymphocytes T effecteurs à mémoire migrent principalement entre les tissus périphériques, le sang et la rate. A ces populations dites circulantes, vient se rajouter récemment l'identification de lymphocytes T mémoire résiduel qui représente le compartiment résident au niveau des tissus périphériques. Le concept d'immuno-surveillance qui consiste à admettre que les LT naïfs ou mémoires recirculantes en permanence dans l'organisme tels des sentinelles dans l'objectif de scanner les cellules présentatrices d'antigènes à la recherche d'Ag spécifique doit être repensé. Ainsi, l'immunosurveillance pour les LT mémoires ne s'accompagne pas nécessairement par une capacité recirculatoire permanente. En effet, un autre moyen, pour les LT mémoires, d'augmenter la probabilité de rencontrer l'Ag en question est de rester localisé au niveau des organes lymphoïdes drainant « le chemin infectieux » habituellement emprunté par le pathogène (mode d'infection : sang, muqueuses, voie respiratoire, tube digestif etc...) où la probabilité de rencontrer le même Ag en cas de réponse secondaire est grande. Autrement dit on pourrait désigner ce nouveau concept « d'immuno-surveillance localisée ».

Plusieurs études montrent que la génération des LT mémoires dépend de plusieurs paramètres durant la phase initiale de différenciation. Il a été démontré que les cellules mémoires sont destinées à circuler du sang vers les tissus périphériques drainant les ganglions lymphatiques via la lymphe afférente, alors que les cellules T naïves circulent du sang vers les ganglions lymphatiques via les veinules endothéliales hautes (83).

Dans un modèle de souris déficiente pour CCR7, une étude montre le rôle majeur de ce récepteur au chimiokine CCR7 dans l'entrée et le positionnement des cellules T au niveau des NL(84)(85).

En 1999, Sallusto et al ont été les premiers à distinguer dans le sang périphérique chez l'homme, différentes populations de cellules T mémoires en se basant sur l'expression de CCR7 et CD62L (65). En effet les TEM représentent un compartiment de cellules ayant rencontré l'Ag (expérimentées) qui peuvent entrer dans les tissus périphériques pour médier des réactions inflammatoires afin de contenir rapidement l'infection.

De l'autre côté, les TCM représentent une population expérimentée qui migre à travers les organes lymphoïdes secondaires.

Suite à une restimulation antigénique, ces TCM peuvent efficacement stimuler des DC, des LB et générer une nouvelle vague de LT effecteurs. D'autre part, la proportion de TEM et TCM dans le sang humain varie au sein des compartiments de LT CD4 et CD8. En effet, une étude de James J Campbell et al, a montré que les TCM sont enrichis en LT CD4 alors que les TEM le sont enrichis LT CD8. Elle a également montré que la distribution des TCM et TEM est aussi dépendante du tissu. En effet, les auteurs ont montré que les amygdales et les ganglions lymphatiques sont enrichis en TCM alors que des organes tels que le poumon, le foie et l'intestin contiennent une plus forte proportion de TEM (86).

Pris ensemble, nos résultats suggèrent globalement que la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) est associée à une réduction des lymphocytes T effecteurs mémoire et à une augmentation des lymphocytes T mémoires centrales. Plus spécifiquement la réduction de lymphocytes TEM et l'augmentation des lymphocytes TCM aussi bien dans les CD4+ que dans les CD8+ était observés seulement chez les participants vaccinés selon le régime long (Bras 1) au début de l'étude.



CONCLUSION ET RE- COMMANDATIONS

7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS :

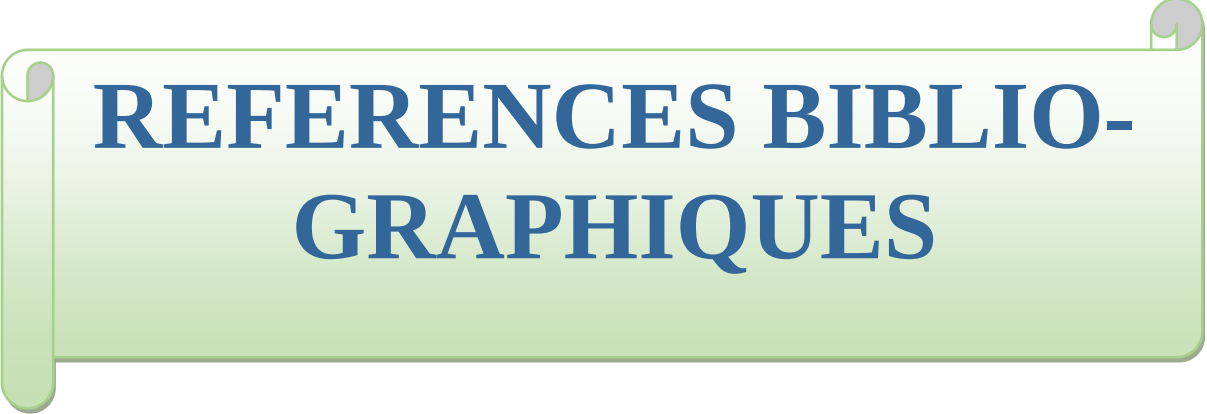
7.1. Conclusion :

Nos résultats indiquent que la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) durant la saison de transmission naturelle n'a d'effet sur les sous populations des lymphocytes T mémoires que lorsqu'il est administré après une série de vaccination selon le régime long.

7.2. Recommandations :

Au terme de cette étude, nous formulons les recommandations suivantes :

- Faire plus d'essais clinique sur le candidat vaccin PfSPZ.
- Renforcer les capacités du laboratoire d'immunologie du MRTC/DEAP pour permettre de tester des panels supplémentaires pour évaluer d'autres populations cellulaires telles que les lymphocytes B et les lymphocytes T fonctionnels).
- Sensibiliser les populations tout en les encourageant à participer massivement aux études de recherche pour aider à faciliter l'éradication de ce fléau que constitue le paludisme.



REFERENCES BIBLIO- GRAPHIQUES

8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

1. World Health Organisation. Comité d'expert du paludisme. Genève; 2000. Report No.: vingtième rapport. [Internet]. [cited 2020 Aug 13]. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42293/WHO_TRS_892_fre.pdf?sequence=1&isAllowed=y
2. WHO | World Malaria Report 2014. WHO [Internet]. 2015 [cited 2020 Jul 23]; Available from: http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2014/en/
3. Rapport 2020 sur le paludisme dans le monde - Messages généraux - World | ReliefWeb [Internet]. [cited 2020 Dec 28]. Available from: <https://reliefweb.int/report/world/rapport-2020-sur-le-paludisme-dans-le-monde-messages-g-n-raux>
4. OMS | Le Rapport sur le paludisme dans le monde 2019 en un clin d'oeil. WHO. 2019;
5. MESSAGE DU MSHP A L'OCCASION E LA CELEBRATION DE LA JOURNEE MONDIALE DE LUTTE CONTRE LE PALUDISME [Internet]. [cited 2020 Apr 10]. Available from: <http://www.sante.gov.ml/index.php/actualites/item/3115-message-du-mshp-al-occasion-e-la-celebration-de-la-journee-mondiale-de-lutte-contre-le-paludisme>
6. Annuaire Statistique 2018 du Système Local d'Information Sanitaire ANNUAIRE STATISTIQUE 2018 DU SYSTEME LOCAL D'INFORMATION SANITAIRE DU MALI.
7. Ceesay SJ, Casals-Pascual C, Nwakanma DC, Walther M, Gomez-Escobar N, Fulford AJC, et al. Continued decline of malaria in The Gambia with implications for elimination. PLoS One [Internet]. 2010 [cited 2020 Aug 18];5(8). Available from: [/pmc/articles/PMC2923605/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2923605/)
8. Sissoko et al. Le vaccin PfSPZ de Sanaria offre un niveau élevé de protection contre les infections paludiques naturelles au Mali [Internet]. [cited 2020 Aug 20]. Available from: <https://www.caducee.net/actualite-medical/13406/le-vaccin-pfspz-de-sanaria-offre-un-niveau-eleve-de-protection-contre-les-infections-paludiques-naturelles-au-mali.html>

9. Sissoko MS, Healy SA, Katile A, Omaswa F, Zaidi I, Gabriel EE, et al. Safety and efficacy of PfSPZ Vaccine against *Plasmodium falciparum* via direct venous inoculation in healthy malaria-exposed adults in Mali: a randomised, double-blind phase 1 trial. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2017 May 1 [cited 2021 Jul 3];17(5):498–509. Available from: [/pmc/articles/PMC6803168/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27011168/)
10. Clyde DF, Most H, McCarthy VC, Vanderberg JP. Immunization of man against sporozoite induced *falciparum* malaria. *Am J Med Sci* [Internet]. 1973 [cited 2020 Aug 25];266(3):169–77. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4583408/>
11. Mellouk S, Lunel F, Sedegah M, Beaudoin RL, Druilhe P. Protection against malaria induced by irradiated sporozoites [Internet]. Vol. 335, *The Lancet*. *Lancet*; 1990 [cited 2020 Aug 25]. p. 721. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1969073/>
12. Hoffman SL, Goh LML, Luke TC, Schneider I, Le TP, Doolan DL, et al. Protection of humans against malaria by immunization with radiation-attenuated *Plasmodium falciparum* sporozoites. *J Infect Dis* [Internet]. 2002 Apr 15 [cited 2021 Jul 3];185(8):1155–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11930326/>
13. Bassandja JO, Agasa SB, Likwela JL. Prévalence du portage asymptomatique du *plasmodium* chez les donneurs bénévoles de sang à Kisangani, République Démocratique du Congo [Internet]. Vol. 17, *Pan African Medical Journal*. *Pan African Medical Journal*; 2014 [cited 2020 Jul 24]. Available from: [/pmc/articles/PMC4198284/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/254198284/)
14. Nagalo K, Dao F, Minodier P, Sawadogo O, Sanon H, Tall FH, et al. Le paludisme congénital maladie à *Plasmodium falciparum*: Aspects épidémiologiques, cliniques, biologiques, thérapeutiques et pronostiques à Ouagadougou, Burkina Faso [Internet]. Vol. 18, *Pan African Medical Journal*. *Pan African Medical Journal*; 2014 [cited 2020 Jul 24]. Available from: [/pmc/articles/PMC4215357/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/254215357/)
15. Bronner U, Divis PCS, Färnert A, Singh B. Swedish traveller with *Plasmodium knowlesi* malaria after visiting Malaysian Borneo. *Malar J*. 2009;8(1):15.
16. Fontenille D, Lochouart L, Diatta M, Sokhna C, Dia I, Diagne N, et al. Four years' entomological study of the transmission of seasonal malaria in Senegal and the bionomics of *Anopheles gambiae* and *A. Arabiensis*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* [Internet]. 1997 [cited 2020 Jul 24];91(6):647–52. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9509170/>

17. Badiane. AS. Etude du polymorphisme genetique et l'immunité humorale induite par le candidat vaccin erythrocyte binding antigen-175(EBA-175) [These de Doctorat en Parasitologie]. [Senegal]: UCAD; 2013.
18. NJ W. *Plasmodium knowlesi*: the fifth human malaria parasite. Clin Infect Dis [Internet]. 2008 Jan 15 [cited 2021 Jul 12];46(2):172–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18171246/>
19. Introduction to Medical Protozoology [Internet]. [cited 2020 Aug 6]. Available from: <http://www.tulane.edu/~wiser/protozoology/notes/INTRO.html>
20. Liu W, Li Y, Shaw KS, Learn GH, Plenderleith LJ, Malenke JA, et al. African origin of the malaria parasite *Plasmodium vivax*. Nat Commun [Internet]. 2014 Feb 21 [cited 2020 Aug 6];5:3346. Available from: [/pmc/articles/PMC4089193/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24684446/)
21. Sutherland CJ, Tanomsing N, Nolder D, Oguike M, Jennison C, Pukrittayakamee S, et al. Two Nonrecombining Sympatric Forms of the Human Malaria Parasite *Plasmodium ovale* Occur Globally. J Infect Dis [Internet]. 2010 May 15 [cited 2020 Aug 6];201(10):1544–50. Available from: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1086/652240>
22. Oguike MC, Betson M, Burke M, Nolder D, Stothard JR, Kleinschmidt I, et al. *Plasmodium ovale curtisi* and *Plasmodium ovale wallikeri* circulate simultaneously in African communities. Int J Parasitol [Internet]. 2011 May [cited 2020 Aug 6];41(6):677–83. Available from: [/pmc/articles/PMC3084460/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21544460/)
23. Doumbo O. Epidémiologie du paludisme au Mali : étude de la chloroquinorésistance, essai de stratégie de contrôle basée sur l'utilisation de rideaux imprégnés de perméthrine associée au traitement systématique des accès fébriles. <http://www.theses.fr> [Internet]. 1992 Jan 1 [cited 2021 Aug 23]; Available from: <http://www.theses.fr/1992MON20039>
24. Yamauchi Lucy M. LM, Coppi A, Snounou G, Sinnis P. *Plasmodium* sporozoites trickle out of the injection site. Cell Microbiol [Internet]. 2007 May [cited 2020 Aug 7];9(5):1215–22. Available from: [/pmc/articles/PMC1865575/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17155755/)
25. Mota MM, Pradel G, Vanderberg JP, Hafalla JCR, Frevert U, Nussenzweig RS, et al. Migration of *Plasmodium* sporozoites through cells before infection. Science (80-) [Internet]. 2001 Jan 5 [cited 2020 Aug 7];291(5501):141–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11141568/>

26. Tavares J, Formaglio P, Thiberge S, Mordelet E, Van Rooijen N, Medvinsky A, et al. Role of host cell traversal by the malaria sporozoite during liver infection. *J Exp Med* [Internet]. 2013 May [cited 2020 Aug 7];210(5):905–15. Available from: [/pmc/articles/PMC3646492/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/246492/)
27. Murray CJL, Rosenfeld LC, Lim SS, Andrews KG, Foreman KJ, Haring D, et al. Global malaria mortality between 1980 and 2010: A systematic analysis. *Lancet*. 2012 Feb 4;379(9814):413–31.
28. Berry A, Iriart X, Wilhelm N, Valentin A, Cassaing S, Witkowski B, et al. Case report: Imported *Plasmodium knowlesi* Malaria in a French tourist returning from Thailand. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2011 Apr [cited 2020 Aug 7];84(4):535–8. Available from: [/pmc/articles/PMC3062444/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21062444/)
29. Gentilini M. Le paludisme : une situation critique. *Médecine-science*. 1993;91-122.
30. Boudin C, Boudon D, Devoucoux R. Immunologie du paludisme : les relations hôte-parasite dans l'infection paludéenne. *Etudes Médicales*. 1984;(2):91–104.
31. The Role of Hemoglobins C, S, and Nbal in the Inhibition of Malaria Parasite Development in Vitro - PubMed [Internet]. [cited 2020 Apr 19]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/384816/>
32. Amagana Dolo, David Modiano, Boubacar Maiga, Modibo Daou, Guimogo Dolo, Hamadoun Guindo, Mamadou Ba, Hama Maiga, Drissa Coulibaly, Hedvig Perlman, Marita Troye Blomberg, Yeya Tiemoko Touré, Mario Coluzzi OD. Difference in susceptibility to malaria between two sympatric ethnic groups in Mali - PubMed [Internet]. [cited 2021 Aug 30]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15772314/>
33. Chimio prophylaxie | Guide d'intervention santé-voyage | INSPQ [Internet]. [cited 2020 Apr 20]. Available from: <https://www.inspq.qc.ca/sante-voyage/guide/risques/paludisme/chimio prophylaxie>
34. Diakite M. Paludisme uptodate. Centre de Recherche et de Formation sur le Paludisme Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie Université de Bamako BP 1805, Bamako, Mali; 2012. (2e édition).
35. Coban C, Ishii KJ, Kawai T, Hemmi H, Sato S, Uematsu S, et al. Toll-like receptor 9 mediates innate immune activation by the malaria pigment hemozoin. *J Exp Med*. 2005 Jan 3;201(1):19–25.

36. Kumaratilake LM, Ferrante A, Jaeger T, Rzepczyk CM. Effects of cytokines, complement, and antibody on the neutrophil respiratory burst and phagocytic response to *Plasmodium falciparum* merozoites. *Infect Immun*. 1992;60(9):3731–8.
37. DEANS JA, KNIGHT AM, JEAN WC, WATERS AP, COHEN S, MITCHELL GH. Vaccination trials in rhesus monkeys with a minor, invariant, *Plasmodium knowlesi* 66 kD merozoite antigen. *Parasite Immunol* [Internet]. 1988 Sep 1 [cited 2020 Apr 21];10(5):535–52. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-3024.1988.tb00241.x>
38. Kumaratilake LM, Ferrante A. Opsonization and phagocytosis of *Plasmodium falciparum* merozoites measured by flow cytometry. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2000 Jan;7(1):9–13.
39. Chapel H, Haeney M, Misbah S, Snowden N. Immunologie clinique: De la théorie à la pratique, avec cas cliniques [Internet]. De Boeck Supérieur; 2004 [cited 2020 Apr 21]. 372 p. Available from: <https://books.google.com/books?id=to-4YDBoe4kC&pgis=1>
40. Auffray C, Sieweke MH, Geissmann F. Blood Monocytes: Development, Heterogeneity, and Relationship with Dendritic Cells. *Annu Rev Immunol*. 2009 Apr 20;27(1):669–92.
41. Bouharoun-Tayoun H, Ouevray C, Lunel F, Druilhe P. Mechanisms underlying the monocyte-mediated antibody-dependent killing of *Plasmodium falciparum* asexual blood stages. *J Exp Med*. 1995 Aug 1;182(2):409–18.
42. Wu L, Liu YJ. Development of Dendritic-Cell Lineages. Vol. 26, Immunity. Elsevier; 2007. p. 741–50.
43. Arama C. Novel immunization strategies and interethnic differences in response to malaria infection. The Wenner-Gren Institute, Stockholm University; 2012.
44. Chillet Pascal, Espinosa Eric. Immunologie. 2010. 512 pages.
45. Adam C, Geniteau M, Gougerot-Pocidalo M, Verroust P, Lebras J, Gibert C, et al. Cryoglobulins, circulating immune complexes, and complement activation in cerebral malaria. *Infect Immun*. 1981;31(2):530–5.
46. Wensch C, Spitzauer S, Florris-Linau K, Rumpold H, Vannaphan S, Parschalk B, et al. Complement activation in severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Clin Immunol Immunopathol*. 1997;85(2):166–71.

47. Kaca W, Roth R. Activation of complement by human hemoglobin and by mixtures of hemoglobin and bacterial endotoxin. *BBA - Gen Subj.* 1995 Aug 17;1245(1):49–56.
48. Pawluczko AW, Lindorfer MA, Waitumbi JN, Taylor RP. Hematin Promotes Complement Alternative Pathway-Mediated Deposition of C3 Activation Fragments on Human Erythrocytes: Potential Implications for the Pathogenesis of Anemia in Malaria. *J Immunol.* 2007 Oct 15;179(8):5543–52.
49. Boldt ABW, Luty A, Grobusch MP, Dietz K, Dzeing A, Kombila M, et al. Association of a new mannose-binding lectin variant with severe malaria in Gabonese children. *Genes Immun.* 2006 Jul 1;7(5):393–400.
50. Luty AJF, Kun JFJ, Kremsner PG. Mannose-Binding Lectin Plasma Levels and Gene Polymorphisms in *Plasmodium falciparum* Malaria. *J Infect Dis.* 1998 Oct;178(4):1221–4.
51. Chen NJ, Mirtsos C, Suh D, Lu YC, Lin WJ, McKerlie C, et al. C5L2 is critical for the biological activities of the anaphylatoxins C5a and C3a. *Nature.* 2007 Mar 8;446(7132):203–7.
52. Phagocytosis of *Plasmodium Falciparum*-Parasitized Erythrocytes by Human Polymorphonuclear Leukocytes - PubMed [Internet]. [cited 2020 May 1]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6338199/>
53. Sher A, Gazzinelli RT, Oswald IP, Clerici M, Kullberg M, Pearce EJ, et al. Role of T-Cell Derived Cytokines in the Downregulation of Immune Responses in Parasitic and Retroviral Infection. *Immunol Rev.* 1992;127(1):183–204.
54. Troye-Blomberg M, Berzins K, Perlmann P. T-cell control of immunity to the asexual blood stages of the malaria parasite. Vol. 14, *Critical Reviews in Immunology*. Crit Rev Immunol; 1994. p. 131–55.
55. The Role of T Lymphocytes in Immunity to *Plasmodium Falciparum*. Enhancement of Neutrophil-Mediated Parasite Killing by Lymphotoxin and IFN-gamma: Comparisons With Tumor Necrosis Factor Effects - PubMed [Internet]. [cited 2020 May 4]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1898962/>
56. Troye-Blomberg M, Riley EM, Kabilan L, Holmberg M, Perlmann H, Andersson U, et al. Production by activated human T cells of interleukin 4 but not interferon- γ is associated with elevated levels of serum antibodies to activating malaria antigens. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87(14):5484–8.

57. RILEY EM, ALLEN SJ, WHEELER JG, BLACKMAN MJ, BENNETT S, TAKACS B, et al. Naturally acquired cellular and humoral immune responses to the major merozoite surface antigen (Pf MSP1) of *Plasmodium falciparum* are associated with reduced malaria morbidity. *Parasite Immunol.* 1992;14(3):321–37.
58. Shi YP, Udhayakumar V, Oloo AJ, Nahlen BL, Lal AA. Differential effect and interaction of monocytes, hyperimmune sera, and immunoglobulin G on the growth of asexual stage *Plasmodium falciparum* parasites. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;60(1):135–41.
59. Müller HM, Reckmann I, Hollingdale MR, Bujard H, Robson KJ, Crisanti A. Thrombospondin related anonymous protein (TRAP) of *Plasmodium falciparum* binds specifically to sulfated glycoconjugates and to HepG2 hepatoma cells suggesting a role for this molecule in sporozoite invasion of hepatocytes. *EMBO J.* 1993 Jul;12(7):2881–9.
60. Aidoo M, Lalvani A, Gilbert SC, Hu JT, Daubersies P, Hurt N, et al. Cytotoxic T-lymphocyte epitopes for HLA-B53 and other HLA types in the malaria vaccine candidate liver-stage antigen 3. *Infect Immun.* 2000;68(1):227–32.
61. O S, JF F, S C, MS M, A S, M B, et al. A Role for Apical Membrane Antigen 1 During Invasion of Hepatocytes by *Plasmodium Falciparum* Sporozoites. *J Biol Chem.* 2004;279(10).
62. Pommier A. Rôle des lymphocytes T CD4⁺ régulateurs dans la suppression des réponses immunitaires anti-tumorales [Internet]. [cited 2020 Aug 8]. Available from: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00806706>
63. Kabelitz D, Wesch D, He W. Perspectives of $\gamma\delta$ T cells in tumor immunology [Internet]. Vol. 67, *Cancer Research*. American Association for Cancer Research; 2007 [cited 2020 Aug 8]. p. 5–8. Available from: www.aacrjournals.org
64. Todryk SM. T cell memory to vaccination. Vol. 6, *Vaccines*. MDPI AG; 2018.
65. Sallusto F, Lenig D, Förster R, Lipp M, Lanzavecchia A. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature.* 1999 Oct 14;401(6754):708–12.

66. R F, T E, E K, M L. Expression of the G-protein--coupled receptor BLR1 defines mature, recirculating B cells and a subset of T-helper memory cells. Blood [Internet]. 1994 Aug 1 [cited 2021 Aug 24];84(3):830–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7913842/>
67. Moser B. CXCR5, the defining marker for follicular B helper T (TFH) cells. Front Immunol. 2015;6(JUN).
68. Vanham G, Bisalinkumi E. [Immunology of human Plasmodium falciparum malaria]. Ann Soc Belg Med Trop. sept 1995;75(3):159-78.
69. Initiative de lutte contre le paludisme, publications de MVI, [En ligne], MVI, 2008, disponible sur <http://www.malariavaccine.org> - Recherche Google [Internet]. [Cité 2 nov 2018].
70. Kieny MP. Vaccins contre le paludisme : état d'avancement. In Médecine tropicale. 2003; 63:245-6.
71. Girard MP, Reed ZH, Friede M, Kieny MP. A review of human vaccine research and development: Malaria. Vol. 25, Vaccine. Vaccine; 2007. p. 1567–80.
72. Kwiatkowski D, Marsh K. Development of a malaria vaccine. Vol. 350, Lancet. Lancet Publishing Group; 1997. p. 1696–701.
73. Gray Heppner D, Cummings JF, Ockenhouse C, Kester KE, Lyon JA, Gordon DM. New World monkey efficacy trials for malaria vaccine development: Critical path or detour? Vol. 17, Trends in Parasitology. Trends Parasitol; 2001. p. 419–25.
74. Stowers AW, Miller LH. Are trials in New World monkeys on the critical path for blood-stage malaria vaccine development? Vol. 17, Trends in Parasitology. Trends Parasitol; 2001. p. 415–9.
75. Goldenthal KL, Falk LA, Ball L, Geber A. Prelicensure Evaluation of Combination Vaccines. Clin Infect Dis. 2001 Dec 15;33(s4):S267–73.
76. Didierlaurent AM, Laupèze B, Di Pasquale A, Hergli N, Collignon C, Garçon N. Adjuvant system AS01: helping to overcome the challenges of modern vaccines. Vol. 16, Expert Review of Vaccines. Taylor and Francis Ltd; 2017. p. 55–63.
77. Vogel FR, Powell MF. A compendium of vaccine adjuvants and excipients. Vol. 6, Pharmaceutical biotechnology. Pharm Biotechnol; 1995. p. 141–228.

78. Ragupathi G, Gardner JR, Livingston PO, Gin DY. Natural and synthetic saponin adjuvant QS-21 for vaccines against cancer. Vol. 10, Expert Review of Vaccines. NIH Public Access; 2011. p. 463–70.
79. Dicko A, Diallo AI, Tembine I, Dicko Y, Dara N, Sidibe Y, et al. Intermittent Preventive Treatment of Malaria Provides Substantial Protection against Malaria in Children Already Protected by an Insecticide-Treated Bednet in Mali: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. PLoS Med [Internet]. 2011 Feb [cited 2021 Aug 24];8(2). Available from: /pmc/articles/PMC3032550/
80. DEMBELE B. L'effet du traitement antipaludique (ASAQ) sur l'infection palustre et la fréquence des cellules T gamma delta chez des adultes en bonne santé à Donéguébougou, Mali. USTTB FACULTE DE MEDECINE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE; 2018.
81. Coulibaly B. REPUBLIQUE DU MALI Un Peuple-Un But-Une Foi THESE : Etude des populations lymphocytaires T avant et après administration des candidats vaccin Pfs25M-EPA/ASO1 et Pfs230D1M-EPA/ASO1, bloquants la transmission du Plasmodium falciparum chez les adultes à Sotuba, Mali [Internet]. USTTB; 2019 [cited 2020 Nov 17]. Available from: <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/3691>
82. Jongo SA, Shekalaghe SA, Preston Church LW, Ruben AJ, Schindler T, Zenklusen I, et al. Safety, immunogenicity, and protective efficacy against controlled human malaria infection of plasmodium falciparum sporozoite vaccine in Tanzanian adults. Am J Trop Med Hyg [Internet]. 2018 [cited 2020 Nov 16];99(2):338–49. Available from: /pmc/articles/PMC6090339/?report=abstract
83. Mackay CR, Marston WL, Dudler L. Naive and memory t cells show distinct pathways of lymphocyte recirculation. J Exp Med [Internet]. 1990 Mar 1 [cited 2021 Jan 20];171(3):801–17. Available from: <http://rupress.org/jem/article-pdf/171/3/801/1100242/801.pdf>
84. Warnock RA, Campbell JJ, Dorf ME, Matsuzawa A, McEvoy LM, Butcher EC. The role of chemokines in the microenvironmental control of T versus B cell arrest in Peyer's patch high endothelial venules. J Exp Med [Internet]. 2000 Jan 3 [cited 2021 Jan 20];191(1):77–88. Available from: /pmc/articles/PMC2195795/?report=abstract

85. Förster R, Schubel A, Breitfeld D, Kremmer E, Renner-Müller I, Wolf E, et al. CCR7 coordinates the primary immune response by establishing functional microenvironments in secondary lymphoid organs. *Cell*. 1999 Oct 1;99(1):23–33.
86. Campbell JJ, Murphy KE, Kunkel EJ, Brightling CE, Soler D, Shen Z, et al. CCR7 Expression and Memory T Cell Diversity in Humans. *J Immunol* [Internet]. 2001 Jan 15 [cited 2021 Jan 20];166(2):877–84. Available from: <http://www.jimmunol.org/content/166/2/877>



ANNEXE

9. ANNEXE

Mode opératoire d'immuno-marquage et étude des réponses cellulaires

Elle consistait à effectuer en *ex vivo*, l'immuno-marquage du sang total par des anticorps fluorescents (anti- CD3-Alexa700, anti-CD8- APC H7, anti-CD4-V500, anti gd TCR-PE, anti-CD27-PE-Cy7, anti-CD45RO-BV421, anti-Vd2-FITC, anti-CD45-BV785, anti-HLADR-BV650, anti-CD19-Indo-1 (BV495), anti-CD21-BV395, anti-CD38-PerCP-Cy5.5 et anti-CCR7-Alexa Fluor 647) avant et après la vaccination de rappel selon la procédure ci-dessous.

Matériels :

FACS tube(5ml)

Pipettes de 2 µl, 20µl et 200 µl

Pipette sérologique : 10 ml

Centrifugeuse

Vortex

Minuteries

Tubes corning 50ml

Réactifs :

Phosphate buffered saline (PBS),

Lysis solution

Eau distillée

Anticorps-CD3/Alexa700

Anticorps-CD8/APCH7

Anticorps-CD4/V500

Anticorps-gdTCR/PE

Anticorps-CD27/PE-Cy7

Anticoprs-CD45RO/BV421

Anticorps-Vd2/FITC

Anticorps-CD45/BV785

Anticorps-HLADR/BV650

Anticorps-CD19-/ndo-1 (BV495)

Anticorps-CD21/BV395

Anticorps-CD38/PerCP-Cy5.5

Anticorps-CCR7/Alexa Fluor 647

Procédure :

Mettre 200µl de sang total dans le FACS tube.

Ajouter 1 µl des anticorps de surface (anti- CD3-Alexa700, anti-CD8- APC H7, anti-CD4-V500, anti gd TCR-PE, anti-CD27-PE-Cy7, anti-CD45RO-BV421, anti-Vd2-FITC, anti-CD45-BV785, anti-HLADR-BV650, anti-CD19-Indo-1 (BV495), anti-CD21-BV395, anti-CD38-PerCP-Cy5.5 et anti-CCR7-Alexa Fluor 647), et agiter.

Incuber à la température ambiante en absence de la lumière pendant 20mn.

Laver avec 2ml de PBS, centrifuger à X tours pendant 5mn puis enlever le surnageant.

Ajouter 0,5ml de 1X BD FACS lysis solution dans chaque tube, puis vortexer.

Incuber dans l'obscurité à température ambiante pendant 15mn.

Laver avec 2ml de PBS, centrifuger à X tours pendant 5mn et enlever le surnageant

Laver avec 2ml de PBS. Centrifuger à X tours pendant 5mn et enlever le surnageant.

Resuspendre les cellules dans 300µl de 2% de Paraformaldéhyde.

Stocker dans 4 °C jusqu'au moment de l'utilisation au FORTESSA

Préparation des tubes de compensation

Préparer les tubes.

Ajouter une goutte de beads de compensation (One Compbeads) dans chaque FACS tube.

Ajouter la même quantité d'anticorps utilisée dans les échantillons.

Incuber pendant 15mn à la température ambiante en l'absence de la lumière.

Laver avec 1 ml de PBS, centrifugé à X tours pendant 5mn. Enlever le surnageant.

Ajouter 300ul de PBS dans chaque tube et agiter.

Stocker dans 4° C jusqu'au moment de l'utilisation au cytomètre BD FORTESSA.

BD LSR FORTESSA X20 :

Matériels et réactifs :

FACS tubes

Beads de contrôles

Solution d'eau d'ionisée

Solution rinçage (rinse)

Solution de lavage (clean)

Solution de fluide (sheath fluid)

Procédure :

Contrôler la solution fluide, le liquide intermédiaire et le réservoir de déchets.

Allumer la machine BD-Fortessa et attendre les lasers s'échauffer pendant 30minutes.

Ajouter une goutte de beads dans 350µl de la solution fluide dans un FACS tube.

Vortexer bien et passer le contrôle.

Passer les compensations en tenant compte des voltages.

Associer le fluorochrome et anticorps correspondant.

Passer les échantillons en tenant compte des voltages.

Exporter les données sur le disque dur.

Passer clean pendant 11minutes.

Passer rinse pendant 11minutes

Passer l'eau pendant 11minutes.

Mettre l'appareil en stand-by.

Eteindre et couvrir l'appareil.

Remplir le cahier d'utilisateur.

Fiche signalétique

Nom : FOFANA

Prénom : Simballa

Nationalité : Malienne

Tel : +223 70892608

Email : fofanasimballa69@gmail.com

Année de soutenance : 2021

Ville de soutenance : Bamako

Titre : Effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) durant la saison de transmission naturelle sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouelessebougou, Mali.

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Pharmacie (FAPH).

Secteur d'intérêt : Santé Publique, Immunologie et Épidémiologie.

Origine de la thèse : Mali

Résumé :

Le paludisme causé par *Plasmodium falciparum* demeure un problème majeur de santé publique dans le monde surtout en Afrique subsaharienne. Un vaccin pouvant interrompre la transmission du paludisme est un outil valable attendu dans la lutte et le contrôle du paludisme. Nous avons mené un essai randomisé, double aveugle, contrôlé par placebo pour évaluer l'effet de la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) durant la saison de transmission naturelle sur les sous populations des lymphocytes T mémoires chez les adultes à Ouelessebougou, Mali. Au total, l'étude portait sur 86 participants âgés de 18-35 ans chez qui un prélèvement veineux a été obtenu avant et après la vaccination de rappel pendant la période d'Avril 2018 à Avril 2020. Après la vaccination de rappel, les lymphocytes T CD4 effecteurs à mémoire (défini comme CD4+CCR7-CD45RO+) étaient diminués de près de 40%, $p < 0,0001$ tandis que les lymphocytes T CD4 mémoires centrales (défini comme CD4+CCR7+CD45RO+) avaient augmenté de près de 24%, $p < 0,0001$. De même, les lymphocytes T CD8 effecteurs à mémoire (défini comme CD8+CCR7-CD45RO+) étaient diminués de près de 30%, $p < 0,0001$ tandis que les lymphocytes T CD8 mémoires centrales (défini comme CD8+CCR7+CD45RO+) avaient augmenté de près de 62%, $p < 0,0001$ chez les participants vaccinés selon le régime long.

Chez les participants vaccinés selon le régime court, après la vaccination de rappel, les lymphocytes T CD4 effecteurs à mémoire étaient diminués de près de 10%, $p < 0,4460$ tandis que les lymphocytes T CD4 mémoires centrales avaient augmenté de près de 9%, $p < 0,4460$. De même, les lymphocytes T CD8 effecteurs à mémoire étaient diminués de près de 1%, $p < 0,8481$ tandis que les lymphocytes T CD8 mémoires centrales avaient augmenté de près de 5%, $p < 0,4460$. En conclusion, la vaccination de rappel avec le vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 atténués par irradiation (PfSPZ) durant la saison de transmission naturelle n'a d'effet sur les sous populations des lymphocytes T mémoires que lorsqu'il est administré après une série de vaccination selon le régime long.

Mots clés : Paludisme, Sporozoïte, *Plasmodium falciparum*, lymphocytes T mémoires, PfSPZ.

Name: FOFANA

First Name: Simballa

Nationality: Malian

Tel: +223 70892608

Email: fofanasimballa69@gmail.com

Academic year: 2019-2020

City of defense: Bamako

Title: Effect of booster vaccination with radiation attenuated *Plasmodium falciparum* sporozoites NF54 vaccine (PfSPZ vaccine) during the natural transmission season on memory T cell subpopulations in adults in Ouelessebouyou, Mali.

Place of deposit: Library of the Faculty of Pharmacy (FAPH).

Focus areas: Public Health, Immunology and Epidemiology.

Origin of the thesis: Mali

Summary:

Malaria caused by *Plasmodium falciparum* remains a major public health problem in the world, especially in sub-Saharan Africa. A vaccine that can interrupt the transmission of malaria is a valuable tool expected in the fight and control of malaria. We conducted a randomized, double-blind, placebo-controlled trial to evaluate the effect of booster vaccination with radiation-attenuated *Plasmodium falciparum* sporozoites NF54 vaccine (PfSPZ) during the natural transmission season on subpopulations of Memory T lymphocytes in adults in Ouelessebouyou, Mali. In total, the study involved 86 participants aged 18-35 years from whom a venous sample was obtained before and after the booster vaccination during the period from April 2018 to April 2020. After the booster vaccination, memory effector CD4 T cells (defined as CD4 + CCR7-CD45RO +) were reduced by nearly 40%, $p < 0.0001$ while central memory CD4 T cells (defined as CD4 + CCR7 + CD45RO +) were increased by almost 24%, $p < 0.0001$. Likewise, memory effector CD8 T cells (defined as CD8 + CCR7-CD45RO +) were reduced by nearly 30%, $p < 0.0001$ while central memory CD8 T cells (defined as CD8 + CCR7 + CD45RO +) had increased by nearly 62%, $p < 0.0001$ in participants vaccinated on the long regimen.

In participants vaccinated on the short regimen, after booster vaccination, effector memory CD4 T cells were decreased by nearly 10%, $p < 0.4460$ while central memory CD4 T cells were increased by nearly 9%, $p < 0.4460$. Likewise, effector memory CD8 T cells were decreased by nearly 1%, $p < 0.8481$ while central memory CD8 T cells were increased by nearly 5%, $p < 0.4460$. In conclusion, booster vaccination with radiation attenuated *Plasmodium falciparum* sporozoites NF54 (PfSPZ) vaccine during the natural transmission season has no effect on memory T cell subpopulations until it is administered. after a series of vaccination according to the long regimen.

Key words: Malaria, Sporozoite, *Plasmodium falciparum*, memory T lymphocytes, PfSPZ.

SERMENT DE GALIEN

- Je jure en présence des maîtres de cette Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes chers condisciples.
- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.
- D'exercer dans l'intérêt de la santé publique ma profession, avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure !