

**Vergleich der Adjuvanzien AS01 und AS02 im Rahmen
einer doppelt blinden, randomisierten Studie des
Malariavakzinekandidaten RTS,S bei Kindern in Gabun:
Klinische Sicherheit und Verlauf der Laborwerte über
einen Zeitraum von 14 Monaten**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
von Glasenapp, Isabelle Désirée**

2015

Dekan

Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter

Professor Dr. P. G. Kremsner

2. Berichterstatter

Professor Dr. M. Schwab

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	5
1.1 Allgemeines	5
1.2 Zyklus der Malaria	6
1.3 Entwicklung des Malaria-Impfstoffes	8
1.4 Entwicklung von RTS,S	8
1.5 Adjuvans-Systeme AS01 und AS02	9
1.6 Studien mit RTS,S	10
1.7 Fragestellung	12
2. Material und Methoden	13
2.1 Studienort und Studienzeit	13
2.2 Studienpopulation	13
2.3 Studienimpfstoffe	15
2.3.1 RTS,S/AS01	16
2.3.2 RTS,S/AS02	16
2.4 Studiendesign	16
2.5 Studienziel	19
2.6 Ethik	19
2.7 Studienablauf	19
2.8 Statistik	26
3. Ergebnisse	27
3.1 Studienpopulation	27
3.2 Erwartete Symptome	29
3.3 Unerwünschte Ereignisse	34
3.4 Schwere unerwünschte Ereignisse	37
3.5 Laborergebnisse	42
4. Diskussion	46

Inhaltsverzeichnis

4.1 Erwartete Symptome	47
4.2 Verlauf der Laborwerte	48
4.3 Unerwünschte Ereignisse	48
4.4 Metastudien von Impfstoffnebenwirkungen	49
4.5 Andere Adjuvanzien der „AS“-Gruppe	50
4.6 Weitere Studien mit RTS,S	51
4.7 Schlussfolgerungen	51
5. Zusammenfassung	53
6. Abkürzungen	54
7. Abbildungen und Tabellen	55
7.1 Abbildungen	55
7.2 Tabellen	55
8. Quellenangaben	57
9. Eigenanteil	62
10. Publikationshinweis	63

1. Einleitung

1.1 Allgemeines

Malaria ist immer noch die häufigste Infektionskrankheit in den Tropen. Laut der Weltgesundheitsorganisation WHO traten im Jahre 2012 207 Millionen Fälle von Malaria auf - Schätzungen reichen von 135 Millionen bis 287 Millionen. Etwa 627000 (geschätzt 473000 bis 789000 Personen) Personen verstarben an Malaria (www.who.int/malaria/media/en).

Die Mortalität konnte seit 2000 insgesamt um 42 % gesenkt werden, in Afrika sogar um 49 %. Betroffen sind dabei vor allem Kinder unter 5 Jahren, die im subsaharischen Afrika leben. Dort stirbt etwa jede Minute ein Kind an Malaria. Nach Daten der WHO ist die Erkrankung noch immer mit Armut assoziiert (WHO Factsheet Nr. 94, März 2014).

Die finanzielle Unterstützung zur Bekämpfung der Malaria ist deutlich angestiegen, reicht aber bei weitem nicht aus. Nach Einschätzungen der WHO betrug 2012 die gesamte internationale und nationale Finanzierung von Präventions- und Kontrollmaßnahmen 2,3 Milliarden US Dollar. Mehr als das Doppelte der Summe wären dabei nötig (World Malaria Report 2012, Factsheet). Es handelt sich hauptsächlich um Infektionen mit dem Parasiten *Plasmodium falciparum*, der durch den Stich einer infizierten Mücke - dem Vektor - der Gattung *Anopheles* übertragen wird.

Ein bisheriger Ansatz zur Kontrolle und Reduktion der Malaria ist die Prävention der Übertragung. Die Vektorkontrolle gelingt durch Verteilen und Benutzen von Bettnetzen, die mit langwirksamen Insektiziden (Pyrethroide) imprägniert sind. Zum anderen werden in den Haushalten Insektizide versprüht.

Eine weitere von der WHO empfohlene präventive Methode ist die intermittierende prophylaktische Gabe von Sulfadoxin-Pyrimethamin an Schwangere und Kinder im ersten Lebensjahr. Dadurch können die Häufigkeit der Erkrankung an Malaria, maternale und fetale Anämie, sowie niedriges Geburtsgewicht und neonatale Mortalität reduziert werden. Bei Kindern treten durch diese Behandlung Malaria und Anämie seltener auf. Die Gabe erfolgt dreimalig parallel zu den Standardimpfungen. Die Empfehlung gilt besonders für Länder mit hoher Malariaübertragungsrate (WHO, ITPp), (WHO, ITPi). Dennoch

ist eine frühzeitige Diagnostik und effektive Behandlung der Malaria wichtig. Die Diagnostik sollte mit Schnelltesten und durch Mikroskopieren eines „Dicken Tropfens“ durchgeführt werden. Die adäquate Behandlung erfolgt mit Artemisininderivat-Kombinationspräparaten.

Das Aufkommen von medikamentenresistenten Stämmen von *P. falciparum* und Mücken, die gegen Insektizide resistent sind, werden zu einem zunehmenden Problem.

Auch wenn die Inzidenz der Malaria in den letzten Jahren durch obengenannte Maßnahmen zurückgegangen ist, sind zusätzliche Anstrengungen nötig.

Im Mai 1974 wurde durch die WHO das erweiterte Impfprogramm (Expanded Programme on Immunization - EPI) eingeführt, um weltweit allen Kindern die Möglichkeit zu geben, von Impfungen zu profitieren. Die WHO begann das Programm mit den Impfungen gegen Tuberkulose, Diphtherie, Tetanus, Pertussis (DTP-Impfstoff), Masern und Poliomyelitis. Inzwischen gibt es nationale Impfprogramme, so dass heutzutage eine Durchimpfung von 80% der Kinder erreicht wird (WHO).

Die Entwicklung eines effektiven, sicheren und finanzierbaren Impfstoffes gegen Malaria wäre ein weiterer Teil der Präventionsmaßnahmen. Insbesondere wenn dieser Impfstoff parallel zu den Standardimpfungen des Impfprogrammes der WHO gegeben werden könnte.

1.2 Zyklus der Malaria

Der Erreger der Malaria ist ein Parasit, das Plasmodium. Es gibt fünf humanpathogene Formen: *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale* und *P. knowlesi*. Dabei ist die durch *P. falciparum* ausgelöste Malaria die gefährlichste für den Menschen (WHO Malaria World Report 2013).

Die Plasmodien brauchen die Mücke der Gattung *Anopheles* als Hauptwirt für die sexuelle Entwicklung und den Menschen als Nebenwirt für die asexuelle Entwicklung. Die Plasmodien werden nach einem Stich von einer infizierten weiblichen *Anopheles*-Mücke in Form von Sporozoiten in die menschliche Blutbahn abgegeben. Von dort dringen sie in die Leberparenchymzellen ein, wo

sich die Sporoziten zu Leberschizonten umwandeln. Die Schizonten setzen nach Zerfall Merozoiten in die Blutbahn frei. Die Merozoiten befallen die Erythrozyten.

In den Erythrozyten findet die weitere Vermehrung der Merozoiten statt, die zum Zerfall der Erythrozyten führt. Die freigesetzten Merozoiten befallen erneut Erythrozyten, in denen sie sich wiederum vermehren.

Ein Teil der Merozoiten differenziert sich zu den sexuellen Gametozyten, die bei einer Blutmahlzeit von einer Mücke aufgenommen werden. In der Mücke findet wiederum die Entwicklung der Gametozyten zu den Sporoziten statt, die dann bei erneutem Stich in die menschliche Blutbahn abgegeben werden.

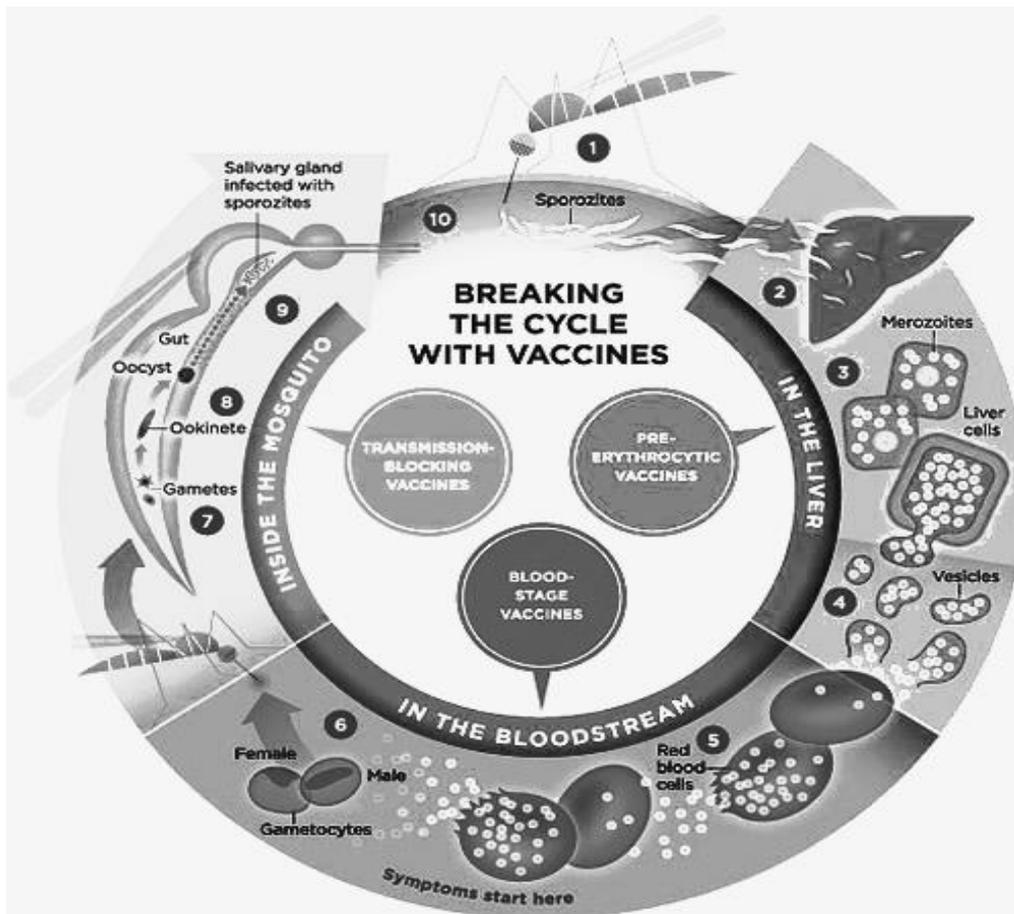


Abbildung 1: Lebenszyklus der Plasmodien

Abgebildet nach Malaria Vaccine Initiative (www.malariavaccine.org)

1.3 Entwicklung des Malaria-Impfstoffes

Die sich zurzeit in der Entwicklung befindlichen Impfstoffe greifen an verschiedenen Punkten des Lebenszyklus der Plasmodien an. Man unterscheidet zwischen Vakzinen, die die Infektion und klinische Erkrankung verhindern und diejenigen, die die Übertragung verhindern sollen.

Die präerythrozytären Impfstoffe sollen eine Immunantwort hervorrufen, die eine weitere Vermehrung der Parasiten verhindern oder die bereits infizierten Leberparenchymzellen angreifen. Die zweite Gruppe der Impfstoffe greift im Blutzellstadium ein. Sie wirken gegen die Freisetzung der Merozoiten aus den Erythrozyten. Sie sollen durch die Reduktion der Merozoitenanzahl die Schwere der Erkrankung verringern. Die dritte Gruppe soll die Übertragung verhindern, indem sie gegen die Vermehrung der Parasiten im Moskito wirksam ist (Malaria Vaccine Initiative, malariavaccine.org).

1.4 Entwicklung von RTS,S

Der von GlaxoSmithKline entwickelte Malariavakzinekandidat RTS,S gehört zu den präerythrozytären Impfstoffen. Die Entwicklung begann 1984 im Rahmen einer Zusammenarbeit von GlaxoSmithKline (GSK) mit dem Walter Reed Army Institut of Research (WRAIR) (Cohen et al., 2010).

Das Zirkumsporozoiten-Protein (CSP), ist ein Antigen auf der Oberfläche der Sporozoitenmembran. Es wurde als ein Ziel für eine mögliche schützende Immunität beschrieben (Nussenzweig et al., 1989).

Verwendet wurde ursprünglich die zentrale Wiederholungsregion des CSP von *P. falciparum* (die Aminosäuren 207 bis 395 des NF54 Stammes). Damit war der Schutz nicht ausreichend, so dass nach weiteren Versuchen zusätzlich die C-terminale Region des CSP hinzugefügt wurde. Diese Region inkorporierte B- und T-Zell-Epitope in ein chimäres Gen, welches in *Saccharomyces cerevisiae* exprimiert wurde (Vreden et al., 1991) (Garçon et al., 2003).

Im Folgenden entwickelte GlaxoSmithKline RTS,S durch Fusionierung des CSP mit dem Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAG) als Trägersubstanz.

Der Name RTS,S setzt sich aus „R“ der Wiederholungsregion des CSP, „T“ den T-Zell-Epitopen, „S“ dem Hepatitis-B-Oberflächenantigen sowie „S“ dem unfusionierten Hepatitis-B-Oberflächenantigen zusammen (Ballou and Cahill, 2007).

Der Impfstoff soll eine starke neutralisierende Immunantwort gegen das Oberflächenprotein der Sporozoiten auslösen. Diese Immunantwort soll die Menge der infektiösen Sporozoiten, welche die Leber infiltrieren, reduzieren. Die Antikörper führen zur Opsonierung und anschließenden Zerstörung der Parasiten durch Makrophagen.

Die Parasiten kursieren nur für kurze Zeit in der Blutbahn bevor sie in die Leberparenchymzellen eindringen. Daher ist es wichtig, dass der Impfstoff eine zellvermittelte Immunantwort auslöst. Die toxischen CD8+ T-Lymphozyten und die Effektor-T-Helferzellen CD4+ spielen dabei die Hauptrolle.

Dabei erkennen diese T-Zellen die infizierten Leberparenchymzellen durch vom Parasiten exprimierte Peptide, die sich zusammen mit den Haupthistokompatibilitätskomplexen Klasse I und Klasse II an der Oberfläche der Leberzellen präsentieren. Als Folge werden die Leberzellen direkt zerstört oder die weitere Entwicklung des Parasiten wird unterbunden.

Idealerweise löst der Impfstoff beide Immunantworten aus und führt zur Bildung von T- und B- Gedächtniszellen.

1.5 Adjuvans-Systeme AS01 und AS02

Adjuvanzen sind wichtige Komponenten in der Entwicklung von Impfstoffen geworden, da sie die Immunantwort verstärken können. Die in dieser Studie genutzten Adjuvanzen AS01 und AS02 wurden von GlaxoSmithKline entwickelt. Beide bestehen aus den Immunostimulantien Monophosphoryl Lipid A (MPL) und Quillaja saponaria (QS21).

MPL ist ein Derivat eines Lipopolysaccharids, welches in der äußeren Membran des gramnegativen Bakteriums *Salmonella minnesota* exprimiert wird. Es ist ein Toll-like-Rezeptor-4 Agonist und induziert eine starke Stimulation der Typ 1 T-

Helfer-Zellen-Antwort, die durch die Sekretion der proinflammatorischen Zytokine und zytotoxischen Antikörper und die Aktivierung der zytotoxischen T-Lymphozyten charakterisiert ist.

QS21 ist ein natürliches Saponin-Molekül, welches aus der Rinde des südamerikanischen Baumes *Quillaja saponaria* purifiziert wurde. Saponine stimulieren eine spezifische humorale und zelluläre Immunantwort, welche die T-Helferzellen 1 Zytokine, zytophile Antikörper und starke Antigen-spezifische zytotoxischen T-Lymphozyten Antwort beinhaltet (Mata et al., 2013).

Das Adjuvans AS01 liegt in liposomer Form vor, wogegen AS02 aus einer Öl-in-Wasser Emulsion besteht. Beide Adjuvanzen wurden bisher nur in Studienimpfstoffen verwendet (Casares et al., 2010).

Die Adjuvanzen AS01 und AS02 sind in Dosierungen für Erwachsene (AS01B, AS02A) und Kinder (AS01E, AS02D) formuliert worden.

1.6 Studien mit RTS,S

Die ersten klinischen Studien mit dem Malariavakzinekandidaten RTS,S wurden in einer Zusammenarbeit zwischen GSK und dem Walter Reed Army Institute of Research (WRAIR) durchgeführt (Heppner et al., 1996).

Dabei wurden in präklinischen Studien an Erwachsenen zunächst die Verträglichkeit und Sicherheit von RTS,S mit den drei Adjuvanzen AS02, AS03 und AS04 verglichen. Im Vergleich erzielte RTS,S mit dem Adjuvans AS02 die besten Ergebnisse. Es löste die stärkste Immunantwort aus. (Stoute et al., 1997).

In der in Gambia durchgeführten Phase I Studie mit RTS,S/AS02 an erwachsenen Probanden konnte gezeigt werden, dass dieser Impfstoff gut vertragen wird und sicher ist (Doherty et al., 1999).

Durch eine Dosisfindungsstudie mit Kindern zwischen 1 bis 11 Jahren wurde die pädiatrische Dosis von 25 µg RTS,S ermittelt. Im Vergleich löste RTS,S in dieser Dosierung eine gleichwertige Immunantwort aus, wie die bislang verwendete Erwachsenenendosis von 50µg (Bojang et al., 2005).

In Mozambik wurde eine weitere Studie mit der gleichen Dosis durchgeführt, bei der die Sicherheit und Immunogenität des Impfstoffes bestätigt wurden (Macete et al., 2007).

Weitere Studien wurden bei Säuglingen durchgeführt, um die Sicherheit und Verträglichkeit von RTS,S/AS02 zu bestätigen, wenn dieser zeitversetzt zu den Impfungen des Impfprogrammes der WHO gegeben wurde (Aponte et al., 2007).

Im Anschluss wurde erneut in Mozambik eine große Phase II Studie an 2222 Kindern im Alter von 1-4 Jahren mit RTS,S/AS02A durchgeführt, um die Effektivität gegen Infektion mit *P. falciparum* zu zeigen. Das dabei ebenfalls untersuchte Sicherheitsprofil und die Verträglichkeit des Impfstoffkandidaten zeigten ähnliche Ergebnisse wie die vorherigen Studien (Alonso et al., 2004).

In einer Phase IIb Studie in Tansania wurde der Impfstoff RTS,S/AS02D 170 Kindern im Alter von 8 bis 16 Wochen gleichzeitig mit den EPI Impfung verabreicht. Kinder, die RTS,S parallel zu einer EPI-Impfung erhielten, hatten öfter Fieber als die Kinder der Kontrollgruppe. Im Übrigen wurde der Impfstoff gut vertragen (Abdulla et al., 2008a).

Initial wurden die Studien mit dem Adjuvans AS02 durchgeführt, zunächst bei Erwachsenen, dann auch bei Kindern. Parallel wurde das Adjuvans AS01 entwickelt, welches in einer Phase II Studie mit Erwachsenen eine höhere Immunantwort auslöste als AS02 (Polhemus et al., 2009). In weiteren Studien sollte nunmehr AS01 als Adjuvans verwendet werden.

Die Ergebnisse der bisherigen Studien zeigten bereits, dass RTS,S/AS02 unbedenklich parallel zu den Impfungen des EPI gegeben werden konnte.

Vor Beginn der Phase III wurde der Impfstoff RTS,S an insgesamt mehr als 3000 Kinder unterschiedlichen Alters in verschiedenen afrikanischen Ländern verabreicht. Auf diesen Daten stützte sich die weitere Entwicklung des Malariavakzinekandidaten.

1.7 Fragestellung

Die in dieser Arbeit beschriebene Studie soll die Entscheidung unterstützen, RTS,S mit dem Adjuvans AS01 in der in den folgenden Jahren geplanten Phase III Studie in Afrika in mehreren Ländern einzusetzen.

Die Studie untersuchte, ob RTS,S/AS01 ein ebenso gutes Sicherheitsprofil aufweist wie RTS,S/AS02.

2. Material und Methoden

2.1 Studienort und -zeit

Die Studie wurde am Centre de Recherches Médicales de Lambaréné (CERMEL) des Albert-Schweitzer-Krankenhauses in Lambaréné, Gabun durchgeführt. Lambaréné liegt am Ufer des Ogooué in Zentralgabun, umgeben von Regenwald und ist mit gut 30.000 Einwohnern die fünftgrößte Stadt des Landes. Das Klima ist tropisch feucht mit zwei Regen- (Februar bis Juni und September bis November) und zwei Trockenzeiten.

Die Übertragung der Malaria erfolgt das ganze Jahr, wobei *Anopheles gambiae* der Hauptvektor ist (Sylla et al., 2001). Die entomologische Inokulationsrate beträgt etwa 50 infektiöse Stiche pro Person pro Jahr. Vorrangiger Erreger ist *P. falciparum*.

Die Studie wurde im Zeitraum von April 2006 bis August 2007 durchgeführt.

2.2 Studienpopulation

Es wurden 180 gesunde Kinder im Alter von 18 bis 59 Monaten, die in Lambaréné lebten, eingeschlossen.

Alle Kinder mussten folgende Einschlusskriterien erfüllen:

- Ein Mädchen oder Junge, welche am Tag der ersten Impfung zwischen 18 und 59 Monate alt waren.
- Die schriftliche oder mündlich unterschriebene oder mit Daumenabdruck vor Zeugen eingeholte Einverständniserklärung von den Eltern oder Erziehungsberechtigten musste vorliegen.
- Die Anforderungen der Studie mussten von den Eltern oder Erziehungsberechtigten eingehalten werden können.

Bei Vorliegen folgender Ausschlusskriterien konnten Kinder nicht in die Studie aufgenommen werden:

- akute Erkrankung zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung (akute Erkrankung wurde als mittel bis schwere Krankheit mit oder ohne Fieber definiert). Der Impfstoff konnte an Probanden mit leichter Erkrankung wie einfache Gastroenteritis oder Erkältung ohne Fieber, d.h. axilläre Temperatur unter 37,5°C gegeben werden.
- schwere oder chronische Erkrankungen, die durch klinische Untersuchung und auffällige Laborresultate bestimmt worden waren
- jede bestätigte oder vermutete immunsuppressive oder immundefiziente Kondition, die auf der Anamnese und klinischen Untersuchung basierte (Laborwerte waren nicht erforderlich)
- in der Familie Anamnese von angeborener oder vererbter Immundefizienz
- vorherige Splenektomie
- relevante angeborene Fehlbildungen
- Anamnese von jeglicher neurologischer Erkrankung und Anfallsleiden
- moderate Unterernährung bei Screening, definiert als z-Score unter -2 (nach der WHO)
- Laborergebnisse (bestimmt bei der Eingangsuntersuchung) außerhalb der Normwerte
- geplante Administration von Impfstoffen, die laut Studienprotokoll nicht vorgesehen waren, innerhalb von 30 Tagen vor der ersten Gabe des Studienimpfstoffes
- jeglicher Gebrauch von nicht-registrierten Medikamenten und Impfstoffen innerhalb von 30 Tagen vor der ersten Impfung und während der Studienzeit
- Gabe von Immunglobulinen, Bluttransfusionen oder Blutprodukten innerhalb von 3 Monaten vor der ersten Impfung und während der gesamten Studienzeit
- längere (d.h. mehr als 14 Tage) Gabe von Immunsuppressiva oder anderen immunmodifizierenden Medikamenten innerhalb von 6 Monaten vor der ersten Impfung (für Kortikosteroide heißt das ein Äquivalent von 0,5mg/kg/d), inhalative oder topische Steroide sind zulässig
- vorherige Teilnahme an anderen Studien mit Malariaimpfstoffen

- gleichzeitige Teilnahme an anderen Studien
- gleichgeschlechtliche Zwillinge
- Anamnese von allergischer (signifikante IgE-vermittelte Ereignisse) oder anaphylaktischer Reaktion auf Impfungen
- Anamnese von allergischen Reaktionen, die durch Teile des Impfstoffes exazerbieren könnten
- jegliches Ereignis, welches ein gesundheitliches Risiko für den Probanden darstellt, wenn dieser an der Studie teilnähme

2.3 Studienimpfstoffe

Alle Bestandteile der Malariavakzinekandidaten wurden von GSK Biologicals hergestellt.

Tabelle 1: Zusammensetzung der Malariavakzinekandidaten

Impfstoff	Formulierung	Darreichung	Volumen
RTS,S/AS01E	RTS,S 25 µg MPL 25 µg QS21 25 µg Saccharose, Liposomen	RTS,S und Saccharose in Pellets in 3 ml Flakon Adjuvans in Flakon opaleszent, wenn zubereitet	0,5 ml
RTS,S/AS02D	RTS,S 25 µg MPL 25 µg QS21 25 µg Zucker, Öl-in-Wasser Emulsion	RTS,S und Zucker in Pellets in 3 ml Flakon Adjuvans in Spritze, milchige Konsistenz	0,5 ml

Alle gelieferten Bestandteile der Impfstoffe mussten unter Verschluss gekühlt bei +2°C bis +8°C gelagert werden.

2.3.1 RTS,S/AS01E

Der Impfstoff lag in zwei Bestandteilen vor. Ein 3 ml-Flakon enthielt die gefriergetrocknete Pellets, die 25µg RTS,S beinhalten. Zucker diente als Kälteprotector.

Ein zweiter Flakon enthielt das Adjuvans AS01E, welches aus 25µg MPL und 25µg QS21 mit Liposomen bestand.

Nach Zubereitung des Impfstoffes entstand eine Dosis von 0,5 ml. Dieser hatte eine opaleszente Erscheinung.

2.3.2 RTS,S/AS02D

Das Antigen RTS,S lag in gleicher Form vor.

Das Adjuvans AS02D enthielt 25µg MPL und 25µg QS21 sowie 125µl der Öl-in-Wasser-Emulsion und Phosphat gepufferte Kochsalzlösung. Die gesamte Menge von 0,5 ml war bereits in eine Spritze abgefüllt.

Diese wurde zur Anfertigung des Impfstoffes direkt vor der Verabreichung genutzt. Der aufgelöste Impfstoff war eine opak-milchige Suspension.

2.4 Studiendesign

Es handelte sich um eine Phase II Studie bei der 180 Kinder 3 Dosen der Malariaimpfstoffkandidaten RTS,S/AS01 oder RTS,S/AS02 erhalten sollten. Sie wurden 1:1 randomisiert

Die Studie bestand aus einer Doppelblindphase - vom Tag der 1. Impfung bis einen Monat nach der 3. Impfung und einer sich direkt daran anschließenden Einfachblindphase, die weitere 11 Monate dauerte. Die Studiendauer insgesamt betrug 14 Monate.

Es wurden insgesamt 280 Kinder gescreent, um von diesen 180 Kinder gemäß den Ein- und Ausschlusskriterien in die Studie einschließen zu können.

Der Impfstoff wurde nach einem Schema 0-1-2 Monate intramuskulär in den linken Musculus deltoideus verabreicht. Jedes Kind wurde von einem Studienarzt für mindestens eine Stunde nach der Impfung überwacht, um eine mögliche anaphylaktische Reaktion rechtzeitig behandeln zu können.

An jede Impfung schloss sich eine 6-tägige Verlaufskontrolle an, während der die Kinder täglich von speziell angelernten Mitarbeitern aufgesucht wurden, um erwartete und unerwartete Nebenwirkungen zu erfassen.

30 Tage lang wurden nach jeder Impfung alle unerwünschten Erscheinungen verzeichnet. Schwere unerwünschte Erscheinungen wurden über den gesamten Zeitraum der Studie erfasst. Dafür wurden alle Kinder einmal im Monat von den Hilfskräften aufgesucht, um nach akuten Erkrankungen, die zwischen den Vorstellungsterminen aufgetreten waren, zu fragen. Ebenso wurden die Eltern aufgefordert, ihre Kinder bei akuter Erkrankung im CERMEL vorzustellen.

Sechs Tage nach der ersten Dosis, 1 Monat nach der dritten Dosis, sowie 12 Monate nach der dritten Dosis erfolgte eine Blutentnahme mit Kontrolle des Blutbildes, der Leber- und Nierenfunktionswerte. Für jedes Kind gab es über den gesamten Studienzeitraum sieben geplante Vorstellungen mit insgesamt vier Blutentnahmen.

Tabelle 2: Übersicht des Studiendesigns und der Prozeduren

	Screening	Doppelblindphase								Einfachblindphase	
		0	1	2	3	4 bis 13	14				
Studienmonat		0	1	2	3	4 bis 13	14				
Studientage	-28 - 0	0	1-5	6	30	31-36	60	61-66	90		
Vorstellung im Labor	1	2	3	4	5	6	7				
Schriftliches Einverständnis	•										
Anamnese	•	•									
Komplette körperliche Untersuchung	•	•									
Vitalparameter	•	•	•	•	•	•	•	•			•
Körpergewicht	•	•		•		•		•			•
Temperatur vor der Impfung		•		•		•					

Material und Methoden

	Screening	Doppelblindphase								Einfachblindphase	
		0		1		2		3		4 bis 13	14
Studienmonat		0		1		2		3		4 bis 13	14
Studientage	-28 - 0	0	1-5	6	30	31-36	60	61-66	90		
Prüfung der Ein-/Ausschlusskriterien	•	•									
Prüfung der Ausschlusskriterien		•			•		•		•		•
Kontraindikation für Impfung überprüfen		•			•		•				
Randomisierung		•									
Gabe von RTS,S/AS01E oder RTS,S/AS02D		•			•		•				
Erfassen von erwarteten Symptomen (Studienarzt)		•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
Erfassen von erwarteten Symptomen (Hilfskraft)			•			•		•			
Erfassen von unerwarteten Ereignissen innerhalb eines Monats nach Impfung		•		•	•		•		•		
Erfassen und Betreuung von schweren unerwünschten Ereignissen		•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
Monatlicher Hausbesuch durch Hilfskräfte										•	
Bestimmung von Laborwerten (BB, ALT, Kreatinin und Bilirubin)	•			•					•		•
Endanalyse									•		
Studienabschluss											•

2.5 Studienziel

Die klinische Sicherheit der Malariavakzinekandidaten sollte in dieser Studie demonstriert werden. Dazu wurden schwere unerwünschte Ereignisse vom Zeitpunkt der ersten Impfung bis einen Monat nach der dritten Impfung erfasst. Darüber hinaus wurden erwartete Symptome für 6 Tage nach jeder Impfung, sowie alle unerwarteten Ereignisse für 30 Tage nach jeder Impfung erfasst. Die Laborparameter wurden mit in die Auswertung aufgenommen.

2.6. Ethik

Das Studienprotokoll und die Einverständniserklärungen wurden von der Ethikkommission der internationalen Albert-Schweitzer-Stiftung Lambaréné sowie des Western Institutional Review Board USA genehmigt. Die Studie wurde nach den Richtlinien der International Conference on Harmonisation (ICH) und Good Clinical Practice (GCP) durchgeführt. GSK führte das Monitoring durch. Ein unabhängiges Data Safety Monitoring Board (DSMB) kontrollierte regelmäßig die Ergebnisse. Ebenso wurde die Studie von einem Local Safety Monitor (LSM) betreut.

Die Studie wurde bei ClinicalTrial.gov unter der Studiennummer NCT 00307021 registriert.

2.7 Studienablauf

Nach gegebener schriftlicher Einverständniserklärung durch die Eltern/Erziehungsberechtigten wurde die Eingangsuntersuchung (Screening) durchgeführt. Konnten die Eltern/Erziehungsberechtigten nicht lesen und schreiben, wurde ein Daumenabdruck in Gegenwart eines unabhängigen Zeugen genommen.

An alle Eltern wurde ein imprägniertes Moskitonetz ausgegeben. Die richtige Nutzung des Netzes wurde ihnen dabei ausführlich erklärt.

Die Eingangsuntersuchung potentieller Probanden umfasste folgende Maßnahmen:

- Erhebung allgemeiner Personendaten (Geburtsdatum, Geschlecht, Größe und Gewicht)
- Erhebung der allgemeinen Anamnese
- Erhebung des Impfstatus, insbesondere von Impfungen gegen Hepatitis B
- Körperliche Untersuchung mit Bestimmung der Vitalfunktionen und des z-Score für Gewicht

Laboruntersuchungen:

- Hämoglobinkonzentration
- Leukozytenzahl
- Thrombozytenzahl
- Kreatinin
- Alanin-Aminotransferase (ALT)
- Gesamtbilirubin

Trafen alle Einschluss- und keines der Ausschlusskriterien zu, wurden die Kinder zur ersten Impfung eingeladen.

Am Tag der ersten Impfung wurden die ausgewählten Kinder einer der beiden Gruppen zugeteilt. Dieses erfolgte mittels einer Einzelsatzrandomisierungsliste, die von GSK Biologicals Rixensart mit SAS® Software erstellt wurde. Der Local Safety Monitor war für die Listen mit den Zuordnungen der Kinder zu einer Studiennummer und dem Impfstoff zuständig. Eine gleiche Liste wurde von GSK aufbewahrt.

Direkt vor jeder Impfung erfolgte eine klinische Untersuchung mit Bestimmung der Vitalzeichen und der axillären Temperatur. Im Falle einer akuten Erkrankung mit einer axillären Temperatur über 37,5°C wurde die Impfung verschoben.

Eine akute allergische Reaktion oder Anaphylaxie durch den Impfstoff, eine HIV-Infektion oder andere Ursachen einer Immunsuppression, sowie eine neu

festgestellte Gedeihstörung galten als absolute Kontraindikationen für weitere Gaben des Impfstoffes.

Zwei Studienschwestern waren für die Lagerung, Präparation und Qualitätskontrolle der Impfstoffe zuständig. Sie waren als Einzige über die jeweilige Zuordnung der Kinder zu den Gruppen informiert. Sie führten ausschließlich die Impfungen durch und waren nicht weiter mit der Betreuung der Kinder befasst.

Zur Zubereitung von RTS,S/AS01E wurde nach Desinfizierung der Oberflächen beider Flakons eine Menge von 0,5ml des Adjuvans in den Flakon mit RTS,S injiziert. Durch vorsichtiges Schwenken lösten sich die Pellets auf.

Nach einer Minute wurde mit einer neuen sterilen Kanüle und Spritze die Impfdosis von 0,5 ml aufgezogen. Diese sollte innerhalb von vier Stunden nach Herstellung verabreicht werden.

Für die Zubereitung von RTS,S/AS02D wurde die Oberfläche des Flakons der RTS,S enthielt desinfiziert. Im Anschluss wurde der Inhalt der vorgefertigten, das Adjuvans enthaltenden Spritze, in den Flakon injiziert. Durch vorsichtiges Schwenken lösten sich die Pellets auf. Nach einer Minute konnte mit einer neuen Kanüle und Spritze die Impfdosis von 0,5 ml aufgezogen werden. Diese sollte ebenfalls innerhalb von vier Stunden nach Herstellung verabreicht werden.

Von der Impfschwester wurde der Impfstoff dem Kind mit einer Kanüle der Stärke 25 Gauge in den linken Musculus deltoideus intramuskulär verabreicht.

Für die 60 minütige Überwachung nach der Impfung stand ein gesonderter Raum zur Verfügung, der mit einem Beatmungsgerät (Oxylog 1000) und einem Erste-Hilfe-Koffer ausgestattet war. Die Studienärzte waren in pädiatrischen Erste-Hilfe-Maßnahmen geschult. Entsprechende Medikamente, um eine anaphylaktische Reaktion fachgerecht zu behandeln, wurden vorgehalten. Nach der 60minütigen Überwachung wurden bei allen Kindern die Vitalparameter überprüft und die axilläre Temperatur gemessen.

In den sechs auf die Impfungen folgenden Tagen wurden die Kinder täglich von angelernten Hilfskräften besucht. Es wurde täglich die axilläre Temperatur gemessen und nach lokalen und allgemeinen zu erwartenden Symptomen

gefragt. Diese beinhalteten lokale Rötung, Schwellung und Schmerz, sowie die Allgemeinsymptome Fieber, Appetitlosigkeit, Irritabilität und Somnolenz. Die Schweregradeinteilung bestand aus einer Ziffer zwischen 1 und 3, wobei 1 leicht und 3 schwer bedeutete (s. Tabelle 3).

Tabelle 3: Intensitäts-Skala für erwartete Symptome bei Kindern unter 6 Jahren

Erwartetes Symptom	Intensitätsgrad	Parameter
Schmerz an Injektionsstelle	0	Abwesend
	1	Leichte Reaktion bei Berührung
	2	Weint/wehrt sich bei Berührung
	3	Weint, wenn Extremität bewegt wird/ plötzlich schmerzhaft
Schwellung an Injektionsstelle	0	Keine
	1	< 5 mm
	2	5 bis 20 mm
	3	> 20 mm
Temperatur	0	< 37.5°C
	1	37.5 – 38.0°C
	2	> 38 – 39.0°C
	3	> 39.0°C
Irritabilität/Unruhe	0	Benimmt sich wie immer
	1	Weint mehr als sonst/kein Einfluss auf normale Aktivität
	2	Weint mehr als sonst/beeinflusst normale Aktivität
	3	Weint, kann nicht beruhigt werden/verhindert normale Aktivität

Erwartetes Symptom	Intensitätsgrad	Parameter
Benommenheit	0	Benimmt sich wie immer
	1	Benommenheit wird toleriert
	2	Benommenheit beeinflusst normale Aktivität
	3	Benommenheit verhindert normale Aktivität
Appetitverlust	0	Appetit wie immer
	1	Isst weniger als gewohnt/ kein Effekt auf normale Aktivität
	2	Isst weniger als gewohnt/beeinflusst normale Aktivität
	3	Verweigert Nahrungsaufnahme

Alle erwarteten Symptome waren per definitionem durch die Impfungen ausgelöst.

Als ein weiteres Kriterium für die Sicherheit und den Grad der Toxizität der Impfstoffe wurden die Laborwerte bestimmt.

Sechs Tage nach der ersten Impfung und einen Monat nach der dritten Impfung erfolgten die Kontrollen von Blutbild, Leber- und Nierenfunktionswerte und Bilirubin. Eine letzte Blutentnahme fand 12 Monate nach der dritten Impfung statt.

Tabelle 4: Normwerte der Laborparameter

Parameter	Normwerte
Hämoglobin	> 8,0 g/dl
Leukozyten	4,0 – 17,0 x 10 ³ /μl
Thrombozyten	> 100 x 10 ³ /μl

Material und Methoden

Parameter	Normwerte
ALT	< 60 U/l
Kreatinin	< 60 $\mu\text{mol/l}$
Bilirubin	< 17 $\mu\text{mol/l}$

Das Bilirubin wurde als nicht klinisch relevanter Parameter eingestuft und nicht als Eliminationskriterium gewertet.

Für die Untersuchung des Blutbildes wurden 1,2 ml Blut in ein Saarstedt-EDTA Röhrchen abgenommen und mit dem Gerät ABX Pentra 60 bestimmt.

Für die Untersuchung der der biochemischen Parameter wurden 1,5 ml Blut in ein Saarstedt-Serumröhrchen abgenommen und mit dem Gerät Cobas Mira Plus von Axonlab bestimmt.

Beide Untersuchungen wurden im klinischen Labor des CERMEL durchgeführt.

Tabelle 5: Laborwerte und Einteilung der Schädigungsgrade

Parameter	Schädigungsgrad	Grenzen
Hämoglobin	0	$\geq 8,0$ g/dl
	1	< 8,0 g/dl
	2	< 6,0 g/dl
	3	<5,0 g/dl
	4	< 5,0 g/dl und klinische Zeichen einer Herzinsuffizienz
Leukozyten	0	$4,0 - 17,0 \times 10^3 / \mu\text{l}$
	1	$2,5 - 4,0 \times 10^3 / \mu\text{l}$
	2	$1,5 - 2,4 \times 10^3 / \mu\text{l}$

Material und Methoden

Parameter	Schädigungsgrad	Grenzen
	3	1,0 - 1,4 x 10 ³ /μl
	4	< 1,0 x 10 ³ /μl
Thrombozyten	0	> 100 x 10 ³ /μl
	1	50 – 99 x 10 ³ /μl
	2	25 – 49 x 10 ³ /μl
	3	< 25 x 10 ³ /μl
	4	< 25x 10 ³ /μl und Blutungsneigung
ALT	0	< 60 U/l
	1	1,1 – 2,5 x obere Grenze
	2	2,6 – 5,0 x obere Grenze
	3	5,1 – 10,0 x obere Grenze
	4	> 10,0 x obere Grenze
Kreatinin	0	< 60 μmol/l
	1	1,1 – 1,5 x obere Grenze
	2	1,6 – 3,0 x obere Grenze
	3	3,1 – 6,0 x obere Grenze
	4	> 6,0 x obere Grenze oder Dialysepflichtigkeit

Die Einteilung der Schädigungsgrade wurde adaptiert nach dem Schema der Division of AIDS (Version Dezember 2004) und der Skala der WHO (Version Februar 2003) zur Einteilung der Schwere von unerwünschten Ereignissen bei Kindern und Erwachsenen.

2.8 Statistik

Die statistische Analyse beruhte auf der „Intention-to-treat“ Population. Diese schloss alle in die Studie aufgenommenen und geimpften Kinder ein. Dabei wurden auch die Kinder, die nur eine Impfdosis erhielten, mit einbezogen. Entscheidend war, dass keine „Entblindung“ erfolgte.

Das mittlere Alter (inklusive Umfang und Standardabweichung) sowie die Ratio weiblich/männlich der gesamten Anzahl der geimpften Kinder und in den Gruppen wurden berechnet.

Die Analyse der Sicherheit erfolgte über Angaben in Prozent mit Angaben des 95% Konfidenzintervalls jeglicher aufgetretener Nebenwirkungen und unerwünschter Ereignisse. Dabei wurde in die Schweregrade (jeglicher Grad und Grad 3 allein) eingeteilt.

Bei den schweren unerwünschten Ereignissen wurde zusätzlich der mögliche vermutete kausale Zusammenhang angegeben.

Die Laborwerte wurden angeordnet nach Ergebnissen im Normbereich und Prozentsatz außerhalb des Normbereiches.

Es wurden die Statistikprogramme SAS® und R benutzt.

3. Ergebnisse

3.1. Studienpopulation

Von 280 Kindern, die der Eingangsuntersuchung unterzogen wurden, sind entsprechend dem Studienprotokoll 180 Kinder in die Studie aufgenommen worden. Sie wurden in zwei Gruppen mit je 90 Probanden per Randomisierung aufgeteilt (Abbildung 2). Gruppe 1 erhielt den Impfstoff RTS,S/AS01E, Gruppe 2 den Impfstoff RTS,S/AS02D.

Das demographische Profil war in Bezug auf mittleres Alter und Geschlecht in beiden Gruppen vergleichbar. Das mittlere Alter der Gruppe 1 betrug 40 Monate mit einer Standardabweichung von 12 Monaten. Entsprechend den Vorgaben war das jüngste Kind 18 Monate alt und das Älteste 59 Monate. Es wurden 36 Mädchen (40%) und 54 Jungen (60%) in dieser Gruppe geimpft.

In der Gruppe 2 betrug das mittlere Alter 39 Monate mit einer Standardabweichung 11 Monaten. Das jüngste Kind in dieser Gruppe war 18 Monate alt, das älteste 60 Monate. In diese Gruppe wurden 52 Mädchen (58%) und 38 Jungen (42%) aufgenommen.

Daraus ergeben sich ein mittleres Alter von 39 Monaten und ein Mädchenanteil von 49 % für die gesamte Studienpopulation.

164 der Kinder beendeten die Doppelblind-Phase der Studie einen Monat nach der dritten Impfung. 16 Kinder wurden ausgeschlossen, die Gründe dafür sind in Abbildung 2 dargestellt. 129 Kinder verblieben bis zum Ende der Studie nach 14 Monaten.

Ergebnisse

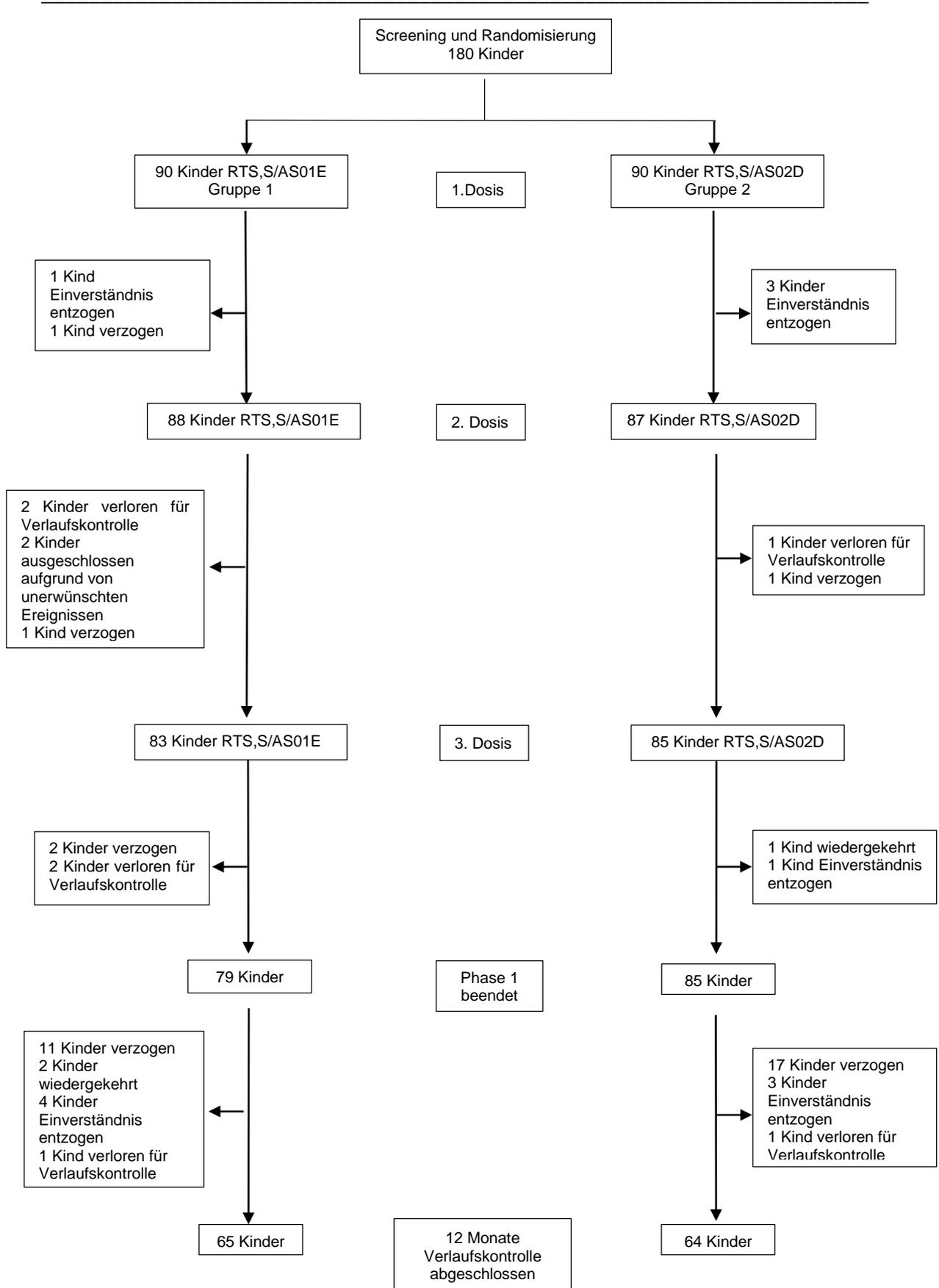


Abbildung 2: Verlaufsdiagramm der Studie

3.2 Erwartete Symptome

Die unerwünschten Arzneimittelwirkungen wurden in einfache erwartete und unerwartete Ereignisse und in schwere unerwünschte Ereignisse eingeteilt.

Die lokalen Nebenwirkungen Schmerz und Schwellung an der Injektionsstelle traten im Verlauf in beiden Gruppen mit zunehmender Häufigkeit auf. Nach der dritten Dosis klagten Dreiviertel der Kinder über Schmerzen und bei etwa der Hälfte der Kinder war eine Schwellung aufgetreten. Bei zwei Kindern kam es zu einer Schwellung Grad 3.

Das häufigste erwartete Allgemeinsymptom war Appetitverlust. Auch dieser nahm im Verlauf zu. Nach der dritten Impfdosis wurde in Gruppe 1 bei einem Viertel und in Gruppe 2 bei einem Drittel der Kinder Appetitverlust angegeben.

Eine erhöhte Temperatur wurde bei den Kindern der Gruppe 2 häufiger gemessen als in Gruppe 1. Die übrigen Allgemeinsymptome wurden in vergleichbarer Häufigkeit beobachtet.

Die erwarteten lokalen und allgemeinen Nebenwirkungen hielten nie länger als 6 Tage nach Gabe der Impfungen an. Die Symptome wurden bis auf in zwei Fällen nie mit der Stärke Grad 3 registriert. Keines der Symptome führte dazu, dass die Teilnahme an der Studie beendet wurde.

Tabelle 6: Erwartete Symptome insgesamt während Tag 1 bis 6 nach den Impfungen

	Gruppe 1		Gruppe 2		OR (95% KI)	p
	N	n (%; 95% KI)	N	n (%; 95% KI)		
Allgemeinsymptome						
Benommenheit	261	17 (7; 4-10)	262	13 (5; 3-8)	1 (0,6-3)	0,44
Temperatur	261	15 (6; 3-9)	262	23 (9; 6-13)	0,6 (0,3-1)	0,18
Irritabilität	261	6 (2; 1-5)	262	8 (3; 1-6)	0,8 (0,2-3)	0,59
Appetitverlust	261	44 (17; 13-22)	262	46 (17; 13-23)	0,95 (0,6-2)	0,83
Lokale Symptome						
Schmerz, gesamt	261	126 (48; 42-55)	262	142 (54; 48-60)	0,8 (0,6-1)	0,017
Dosis 1	90	19 (21; 13-31)	90	32 (36; 26-46)	0,5 (0,2-0,99)	0,031
Dosis 2	88	34 (39; 28-50)	87	34 (39; 29-50)	0,9 (0,5-2)	0,95
Dosis 3	83	73 (88; 79-94)	85	76 (89; 81-95)	0,9 (0,3-3)	0,76
Schwellung, gesamt	261	83 (32; 26-38)	262	96 (37; 31-43)	0,8 (0,6-1)	0,24
Dosis 1	90	5 (6; 2-13)	90	13 (14; 8-23)	0,4 (0,1-1)	0,04

Ergebnisse

	Gruppe 1		Gruppe 2		OR (95% KI)	p
	N	n (%; 95% KI)	N	n (%; 95% KI)		
Dosis 2	88	21 (24; 15-34)	87	22 (25; 17-36)	0.9 (0.4-2)	0,82
Dosis 3	83	57 (69; 58-78)	85	61 (61; 61-81)	0.86 (0.4-2)	0,66

N= Anzahl der Impfdosen

Tabelle 7: Erwartete allgemeine Symptome insgesamt und Auftreten von Grad 3 eines Symptomes je einzelne Impfdosis

Symptom	Typ	Gruppe 1		Gruppe 2		OR (95% KI)	p
		N	n (%; 95% KI)	N	n (%; 95% KI)		
Dosis 1							
Benommenheit	gesamt	90	2 (2.2; 0.3-8)	90	1 (1.1; 0-6)	2.02 (0.10-121)	0,56
	Grad 3	90	0 (0.0; 0-4)	90	0 (0.0; 0-4)	n.a	n.a
Temperatur (axillär) (°C)	gesamt	90	4 (4.4; 1,2-11)	90	9 (10; 5-18)	0.42 (0.09-2)	0,14
	> 39,0°C	90	0 (0.0; 0-4)	90	0 (0.0; 0-4)	n.a	n.a
Irritabilität	gesamt	90	4 (4.4; 1,2-11)	90	5 (5.6; 2-13)	0.79 (0.15-4)	0,73
	Grad 3	90	0 (0.0; 0-4)	90	0 (0.0; 0-4)	n.a	n.a
Appetitverlust	gesamt	90	7 (7.8; 3-15)	90	6 (6.7; 3-14)	1.18 (0.32-4)	0,77
	Grad 3	90	0 (0.0; 0-4)	90	0 (0.0; 0-4)	n.a	n.a
Dosis 2							
Benommenheit	gesamt	88	9 (10.2; 5-19)	87	4 (4.6; 1-11)	2.35 (0.63-11)	0,155
	Grad 3	88	0 (0.0; 0-4)	87	0 (0.0; 0-4)	n.a	n.a
Temperatur (axillär) (°C)	gesamt	88	8 (9.1; 4-17)	87	12 (13.8; 7-23)	0.63 (0.21-2)	0,32
	>39,0°C	88	0 (0.0; 0-4)	87	0 (0.0; 0-4)	n.a	
Irritabilität	gesamt	88	2 (2.3; 0,3-8)	87	2 (2.3; 0,3-8)		
	Grad 3	88	0 (0.0; 0-4)	87	0 (0.0; 0-4)	n.a	n.a
Appetitverlust	gesamt	88	17 (19.3; 12-29)	87	12 (13.8; 7-23)		
	Grad 3	88	0 (0.0; 0-4)	87	0 (0.0; 0-4)	n.a	n.a
Dosis 3							
Benommenheit	gesamt	83	7.2 (3-15)	85	9.4 (4-18)	0.75 (0.20-3)	0,60
	Grad 3	83	0 (0.0; 0-4)	85	0 (0.0; 0-4)	n.a	n.a
Temperatur (axillär) (°C)	gesamt	83	3.6 (0,8-10)	85	2.4 (0.3-8)	0.75 (0.20-3)	0,60
	>39,0°C	83	0 (0.0; 0-4)	85	0 (0.0; 0-4)	n.a	n.a
Irritabilität	gesamt	83	0 (0.0; 0-4)	85	1 (1.2; 0-6)	n.a	n.a
	Grad 3	83	0 (0.0; 0-4)	85	0 (0.0; 0-4)	n.a	n.a
Appetitverlust	gesamt	83	20 (24.1; 15-35)	85	28 (32.9; 23-44)	0.65 (0.31-1)	0,20
	Grad 3	83	0 (0.0; 0-4)	85	0 (0.0; 0-4)	n.a	n.a

N= Anzahl der Impfungen

n= Anzahl der Kinder, die ein Symptom aufwiesen

OR= Odds Ratio

95%KI= 95% Konfidenzintervall (obere und untere Grenze)

p= p-Wert

n.a. nicht anwendbar

Ergebnisse

Tabelle 8: Erwartete allgemeine Symptome pro Dosis

Insgesamt/Dosis							
			Gruppe 1		Gruppe 2		
Symptom	Typ	N	n (%; 95% KI)	N	n (%; 95% KI)	OR 95% KI	p
Benommenheit	gesamt	261	17 (6; 4-10)	262	13 (5; 3-8)	1.33 (0.60-3)	0,44
	Grad 3	261	0 (0; 0-1)	262	0 (0; 0-1)	n.a	n.a
Temperatur (axillär) (°C)	gesamt	261	15 (6 ; 3-9)	262	23 (9; 6-13)	0.63 (0.30-1)	0,18
	>39,0°C	261	0 (0; 0-1)	262	0 (0; 0-1)	n.a	n.a
Irritabilität	gesamt	261	6 (2; 0,8- 5)	262	8 (3; 1-6)	0.75 (0.21 3)	0,59
	Grad 3	261	0 (0 ; 0-1)	262	0 (0; 0-1)	n.a	n.a
Appetitverlust	gesamt	261	44 (17; 13-22)	262	46 (18: 13-23)	0.95 (0.59-2)	0,83
	Grad 3	261	0 (0; 0-4)	262	0 (0; 0-1)	n.a	n.a

Tabelle 9: Erwartete allgemeine Symptome pro Proband

Insgesamt/ Proband							
			Gruppe 1		Gruppe 2		
Symptom	Typ	N	n (%; 95% KI)	N	n (%; 95% KI)	OR 95% KI	p
Benommenheit	gesamt	90	14 (16; 9-25)	90	13 (14; 8-23)	1.09 (0.44-3)	0,83
	Grad 3	90	0 (0; 0-4)	90	0 (0; 0-4)	n.a	n.a
Temperatur (axillär) (°C)	gesamt	90	15 (17; 10-26)	90	22 (24; 16-35)	0.62 (0.27-2)	0,19
	>39,0°C	90	0 (0; 0-4)	90	0 (0; 0-4)	n.a	n.a
Irritabilität	gesamt	90	5 (6; 2-13)	90	8 (9; 4-17)	0.60 (0.15-2)	0,38
	Grad 3	90	0 (0; 0-4)	90	0 (0; 0-4)	n.a	n.a
Appetitverlust	gesamt	90	33 (37; 27-48)	90	35 (39; 29-50)	0.91 (0.48-2)	0,75
	Grad 3	90	0 (0; 0-4)	90	0 (0; 0-4)	n.a	n.a

N = Anzahl der Probanden

n/% = Anzahl/Prozent der Kinder, die ein Symptom aufwiesen

OR= Odds Ratio

95% KI= 95% Konfidenzintervall (obere und untere Grenze)

p= p-Wert

n.a= nicht anwendbar

Ergebnisse

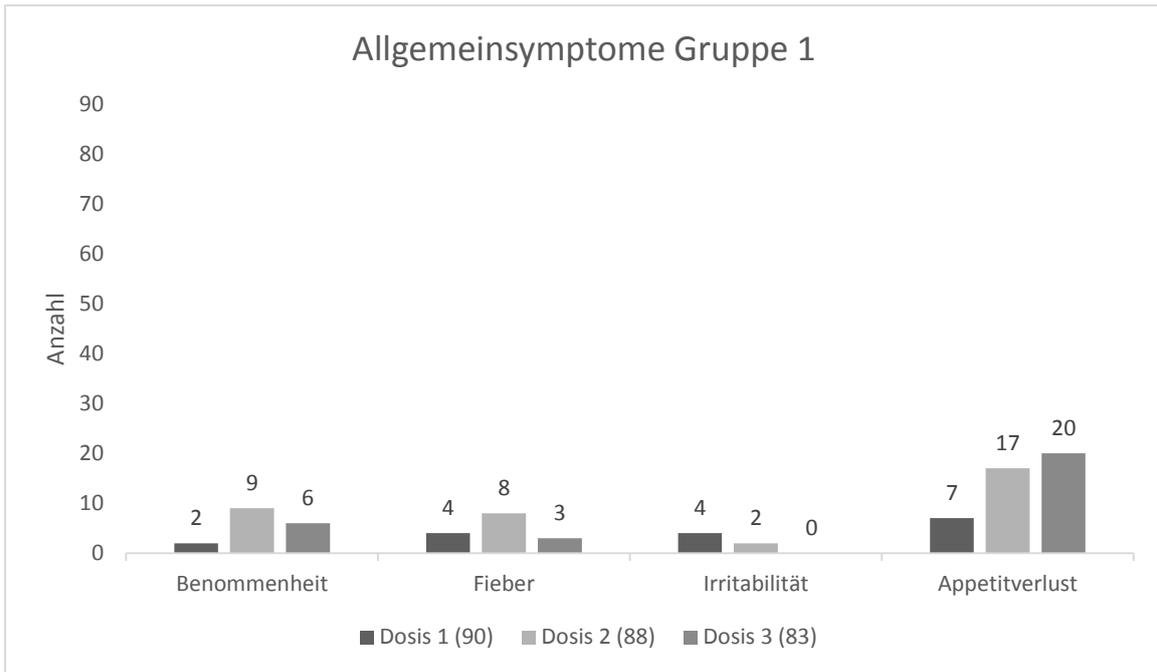


Abbildung 3: Häufigkeit der erwarteten allgemeinen Symptome in Gruppe 1 pro Impfdosis

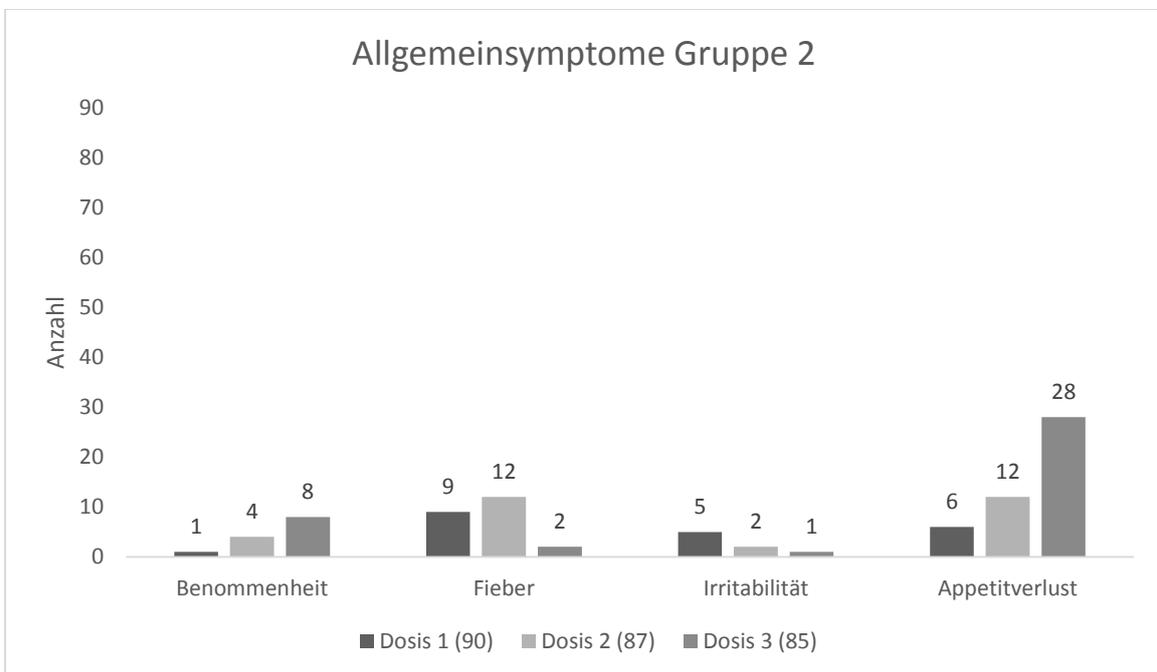


Abbildung 4: Häufigkeit der erwarteten allgemeinen Symptome in Gruppe 2 pro Impfdosis

Ergebnisse

Tabelle 10: Erwartete lokale Symptome pro Dosis und pro Proband

Symptom	Type	Gruppe 1		Gruppe 2		OR (95% KI)	p
		N	n (%; 95% KI)	N	n (%; 95% KI)		
Insgesamt/Dosis							
Schmerz	Insgesamt	261	126 (48; 42-54)	262	142 (54; 48-60)	0.78 (0.55-1.12)	0,16
	Grad 3	261	0 (0; 0-1)	262	0 (0;0-1)	n.a	n.a
Schwellung (mm)	Insgesamt	261	83(31; 26-38)	262	96 (37; 31-43)	0.81 (0.55-1.18)	0,24
	>20 mm	261	1 (0,4; 0-2)	262	1 (0,4; 0-2)	1.00 (0.01-79.05)	0,99
Insgesamt/Proband							
Schmerz	Insgesamt	90	81 (90; 82-95)	90	83 (92; 85-97)	0.76 (0.23-2.42)	0,6
	Grad 3	90	0 (0; 0-4)	90	0 (0; 0-4)	n.a	n.a
Schwellung	Insgesamt	90	63 (70; 59-79)	90	73 (81; 72-89)	0.55 (0.25-1.15)	0,08
	>20 mm	90	1 (1; 6-90)	90	1 (1; 0-6)	1,0 (0,01-79,32)	1

N = Anzahl der Kinder

n/% = Anzahl/Prozent der Kinder, die ein Symptom aufwiesen

OR= Odds Ratio

95% KI= 95% Konfidenzintervall (obere und untere Grenze)

p= p-Wert

n.a=nicht anwendbar

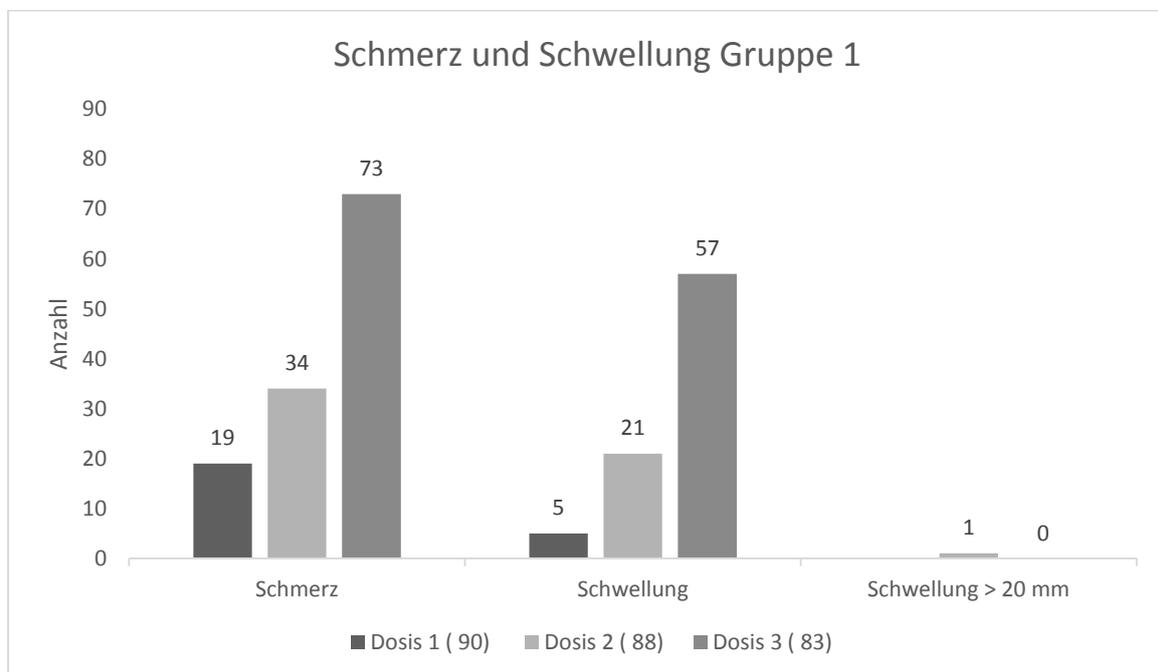


Abbildung 5: Häufigkeit der erwarteten lokalen Symptome in Gruppe 1 pro Impfdosis und Auftreten von Schwellung > 20 mm

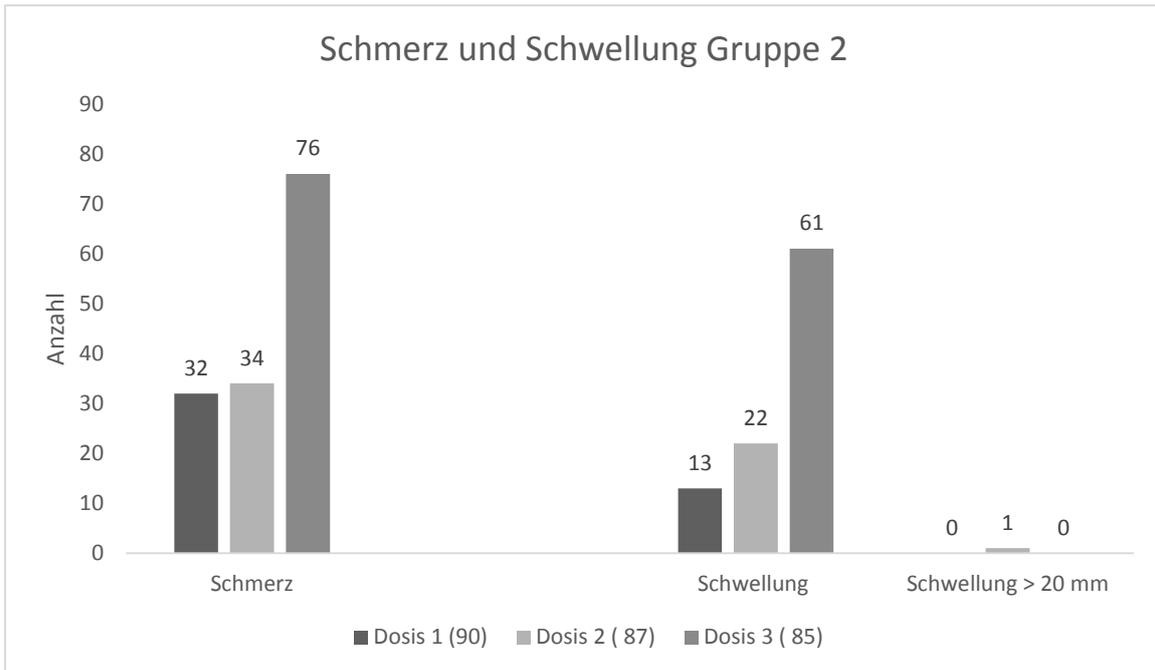


Abbildung 6: Häufigkeit der lokalen erwarteten Symptome in Gruppe 2 pro Impfdosis und Auftreten von Schwellung > 20 mm

3.3 Unerwünschte Ereignisse

Insgesamt wurde während der Doppelblindphase bei einer ähnlichen Anzahl von Kindern in beiden Gruppen von unerwünschten Ereignissen berichtet: in der Gruppe 1 bei 79 % (95 % KI: 69-87%) der Kinder und in der Gruppe 2 bei 82% (95% KI: 73-90%) der Kinder.

Keines der unerwünschten Ereignisse stand in einem kausalen Zusammenhang zur der Impfung. Keines dieser Ereignisse führte zu einer vorzeitigen Beendigung der Studienteilnahme. Die Therapie der Erkrankungen erfolgte nach den lokalen Standards. Die Erkrankungen, mit denen die Kinder vorgestellt wurden, entsprachen denen, die für diese Altersgruppe erwartet wurden.

Die im Folgenden aufgelisteten Erkrankungen wurden während der Doppelblindphase erfasst.

Die Symptome wurden entsprechend dem MedDRA (Medizinisches Wörterbuch für Aktivitäten im Rahmen der Arzneimittelzulassung) bezeichnet.

Ergebnisse

Tabelle 11: Anzahl und prozentuale Häufigkeit von unerwarteten Symptomen

		Gruppe 1 N = 90	Gruppe 2 N = 90		
Organsystematik	Bevorzugter Ausdruck (MedDRA)	n (%; 95% KI)	n (%; 95% KI)	OR (95% KI)	p
Mindestens ein Symptom		71 (79; 69-87)	74 (82; 73-90)	0,81 (0,36-2)	0,57
Erkrankungen des Blutes und lymphatisches System	Anämie	1 (1; 0-6)	0 (0; 0-4)	n.a	
	Lymphadenopathie	2 (2; 0,3-8)	1 (1; 0-6)	2.02 (0.1-121)	0,56
Angeborene, familiäre oder genetische Erkrankung	Sichelzellanämie	1 (1; 0-6)	0 (0; 0-4)	n.a	
Augenaffektion	Konjunktivitis	4 (4; 1-11)	4 (4; 1-11)	1 (0.18-6)	1
Gastrointestinale Affektion	Abdominale Auftreibung	1 (1; 0-6)	0 (0; 0-4)	n.a	
	Abdominaler Schmerz	0 (0; 0-4)	4 (4; 1-11)	n.a	
	Oberer abdominaler Schmerz	0 (0; 0-4)	1 (1; 0-6)	n.a	
	Zahnkaries	0 (0; 0-4)	1 (1; 0-6)	n.a	
	Diarrhöe	5 (6; 2-13)	9 (10; 5-18)	0.53 (0.13-2)	0,26
	Enteritis	1 (1; 0-6)	0 (0; 0-4)	n.a	
	Gastritis	0(0; 0-4)	1 (1; 0-6)	n.a	
	Haematochezia	0 (0; 0-4)	1 (1; 0-6)	n.a	
	Stomatitis	1 (1; 0-6)	1 (1; 0-6)	1 (0.01-79)	1
	Umbilikale Hernie	0 (0; 0-4)	1 (1; 0-6)	n.a	
	Erbrechen	1 (1; 0-6)	0 0; 0-4)	n-n	
Allgemeinsymptome und Zustand der Einstichstelle	Pyrexia Fieber	5 (6; 2-13)	5 (6; 2-13)	1.00 (0.22-5)	1
Infektionen und Befall	Abszess der Bauchwand	0 (0; 0-4)	1 (1; 0-6)	n.a	
	Abszess	1 (1; 0-6)	1 (1; 0-6)	1 (0,01-79	1
	Abszess an Extremität	1 (1; 0-6)	0 (0; 0-4)	n.a	
	Abszess am Hals	0(0; 0-4)	1 (1; 0-6)	n.a	
	Akrodermatitis	5 (6; 2-13)	6 (7; 3-14)	0.82 (0.19-3)	0,75
	Akute Tonsillitis	1 (1; 0-6)	0 (0; 0-4)	n.a	
	Amoebiasis	0 (0; 0-4)	1 (1; 0-6)	n.a	
	Tinea am Körper	0 (0; 0-4)	3 (3; 0,7-9)	n.a	
	Bronchitis	9 (10; 5-18)	11 (12; 6-21)	0.80 (0.28-2.)	0,63
	Pilzinfektion	2 (2; 0,3-8)	1 (1; 0-6)	2.02 (0.10-121)	0,56
	Gastroenteritis	4 (4; 1-11)	9 (10; 5-18)	0.42 (0.09-2)	0,14
	Pilzinfektion im Genitalbereich	1 (1; 0-6)	0 (0; 0-4)	n.a	

Ergebnisse

		Gruppe 1 N = 90	Gruppe 2 N = 90		
Organsystematik	Bevorzugter Ausdruck (MedDRA)	n (%; 95% KI)	n (%; 95% KI)	OR (95% KI)	p
Infektionen und Befall	Wurmbefall intestinal	17 (19; 11-28)	11 (12; 6-21)	1.67 (0.68-)	0,21
	Hepatitis A	1 (1; 0-6)	0 (0; 0-4)	n.a	
	Impetigo	2 (2; 0,3-8)	0 (0; 0-4)	n.a	
	Influenza	0 (0; 0-4)	1 (1; 0-6)	n.a	
	Laryngitis	0 (0; 0-4)	1(1; 0-6)	n.a	
	Unterer Luftwegsinfekt	0 (0; 0-4)	1 (1; 0-6)	n.a	
	Malaria	3 (3; 0,7-9)	0 (0; 0-4)	n.a	
	Nasopharyngitis	41 (46; 35-56)	41 (46; 35-56)	1 (0.53-2)	1
	Otitis media	5 (6; 2-13)	2 (2; 0,3-8)	2.58 (0.41-28)	0,24
	Pneumonie	1 (1; 0-6)	1 (1; 0-6)	1 (0,01-79)	1
	Schistosomiasis	1 (1; 0-6)	2 (2; 0,3-8)	0.50 (0.01-10)	0,56
	Infektion der Haut	1 (1; 0-6)	0 (0; 0-4)	n.a	
	Staphylokokkeninfektion der Haut	10 (11; 6-20)	13 (14; 8-23)	0.74 (0.27- 2)	0,5
	Subkutaner Abszess	1 (1; 0-6)	1 (1; 0-6)	1 (0,01-79)	1
	Tinea capitis	6 (7; 3-14)	5 (6; 2-13)	1.21 (0.30-5)	0,75
	Oberer Luftwegsinfekt	5 (6; 2-13)	4 (4; 1-11)	1.26 (0.26-7)	0,73
	Harnwegsinfektion	1 (1; 0-6)	2 (2; 0,3-8)	0.50 (0.01-10)	0,56
	Visceral larva migrans	0 (0; 0-4)	1 (1; 0-6)	n.a	
	Verletzungen, Vergiftungen und Komplikationen bei Prozeduren	Verbrennung zweiten Grades	0 (0; 0-4)	1 (1; 0-6)	n.a
Gelenkverstauchung		0 (0; 0-4)	1 (1; 0-6)	n.a	
Fraktur der unteren Extremität		0 (0; 0-4)	1 (1; 0-6)	n.a	
Radiusfraktur		0 (0; 0-4)	2 (2; 0,3-8)	n.a.	
Thermische Verletzung		0 (0; 0-4)	1 (1; 0-6)	n.a	
Wunde		1 (1; 0-6)	1 (1; 0-6)	1 (0,01-79)	1
Erkrankungen des zentralen Nervensystems	Fieberkrampf	1 (1; 0-6)	0 (0; 0-4)	n.a	
Erkrankungen der Atemwege, des Thorax und Mediastinum	Asthma	1 (1; 0-6)	0 (0; 0-4)	n.a	
	Husten	4 (4; 1-11)	4 (4; 1-11)	1 (0.18- 6)	1
	Epistaxis	1 (1; 0-6)	0 (0; 0-4)	n.a	
	Rhinorrhoea	0 (0; 0-4)	2 (2; 0,3-8)	n.a	

Ergebnisse

		Gruppe 1 N = 90	Gruppe 2 N = 90		
Organsystematik	Bevorzugter Ausdruck (MedDRA)	n (%; 95% KI)	n (%; 95% KI)	OR (95% KI)	p
Erkrankungen der Haut und des subkutanen Gewebes (10040785)	Allergische Dermatitis	1 (1; 0-6)	0 (0; 0-4)	n.a	
	Dermatosis	0 (0; 0-4)	1 (1; 0-6)	n.a	
	Exanthem	0 (0; 0-4)	1 (1; 0-6)	n.a	

N = Anzahl der Probanden, die mindestens 1 Impfdosis erhalten haben

n/% = Anzahl/Prozent der Kinder, die mindestens ein Symptom aufwiesen

OR= Odds Ratio

95% KI= 95% Konfidenzintervall (obere und untere Grenze)

p= p-Wert

n.a= nicht anwendbar

3.4 Schwere unerwünschte Ereignisse

Nach den Richtlinien des Good Clinical Practice werden schwere unerwünschte Ereignisse definiert als Ereignisse oder Erkrankungen, die zu einer Aufnahme in einer Klinik, schwerer Behinderung oder Tod führen.

Während der Doppelblindphase traten in beiden Gruppen insgesamt 7 schwere unerwünschte Ereignisse auf. Kein Kind ist während der Studienzeit verstorben.

Die stationäre Aufnahme erfolgte auf der Kinderstation des Albert-Schweitzer-Krankenhauses. Bei besonderen Fragstellungen wurden die Kinder im Universitätskrankenhaus in Libreville vorgestellt. Die Betreuung erfolgte durch die Ärzte des Studienteams.

Bei keinem der schweren unerwünschten Ereignisse wurde ein kausaler Zusammenhang zu den Impfstoffen vermutet. Zwei Kinder wurden nach einem schweren unerwünschten Ereignis von der Studie ausgeschlossen. Sie erhielten keine weiteren Impfungen.

Die Symptome wurden entsprechend dem MedDRA (Medizinisches Wörterbuch für Aktivitäten im Rahmen der Arzneimittelzulassung) bezeichnet.

Ergebnisse

Tabelle 12: Schwere unerwünschte Ereignisse über den gesamten Studienzeitraum

Nummer	Alter in Monaten/ Geschlecht	In Worten	Bevorzugter Terminus (MedDRA)	Impf-dosen	Tag des Beginns nach letzter Impfung	Dauer in Tagen	Ausgang
Gruppe 1							
9	33/m	Krampfanfall bei Fieber	Krampfanfall bei Fieber	2	18	1	geheilt
	33	Fieber unbekannter Ursache	Pyrexia	2	17	4	geheilt
66	58/m	Hydrozele rechts, Phimose	Hydrozele	3	272	43	geheilt
	58	Hydrozele rechts, Phimose	Phimose	3	272	43	geheilt
104	37/m	Chronische Obstipation	Obstipation	3	97	4	geheilt
115	57/m	Bronchitis	Bronchitis	3	286	5	geheilt
125	28/w	Pneumonie	Pneumonie	3	216	16	geheilt
181	30/m	Anämie	Anämie	3	7	21	geheilt
	30	Akuter Asthmaanfall	Asthma	3	7	3	geheilt
	30	Pneumonie	Pneumonie	3	6	4	geheilt
234	42/w	Schwere Anämie	Anämie	3	101	4	geheilt
	42	Verdacht auf Malaria	Malaria	3	96	8	geheilt
277	51/w	Hepatitis A	Hepatitis A	2	2	25	geheilt
	51	Sichelzellanämie	Sichelzellanämie	2	5	.	nicht geheilt
Gruppe 2							
1	33/m	Inkarzerierte Umbilikalhernie	Umbilikalhernie, obstruktive	2	21	7	geheilt
72	34/w	Akuter Asthmaanfall	Asthma	3	81	6	geheilt
	34	Infekt der unteren Atemwege	Infekt der unteren Atemwege	3	77	10	geheilt
	34	Pharyngitis	Pharyngitis	3	77	6	geheilt
88	25/w	Gastroenteritis	Gastroenteritis	3	26	3	geheilt
	28	Verbrennung II°	Verbrennung II°	3	122	19	geheilt
117	40/w	Anämie	Anämie	3	47	10	geheilt
	40	zerebrale Malaria	zerebrale Malaria	3	42	8	geheilt
	42/w	Malaria (P. falciparum, nicht schwer)	Plasmodium falciparum Infektion	3	92	44	geheilt
138	27/w	Gastroenteritis	Gastroenteritis	3	30	3	geheilt
141	22/m	Gastroenteritis	Gastroenteritis	3	9	12	geheilt
161	30/m	akuter Asthmaanfall	Asthma	3	126	8	geheilt
	33/m	Pneumonie	Pneumonie	3	230	7	geheilt

Ergebnisse

Nummer	Alter in Monaten/ Geschlecht	In Worten	Bevorzugter Terminus (MedDRA)	Impf-dosen	Tag des Beginns nach letzter Impfung	Dauer in Tagen	Ausgang
198	38/m	Krampfanfall (andere)	Epilepsie	3	84	1	geheilt
	44	epileptischer Anfall	Epilepsie	3	238	1	geheilt
	45	epileptischer Anfall	Epilepsie	3	273	1	geheilt

w= weiblich
m= männlich

Im Folgenden werden die schweren unerwünschten Ereignisse während der Doppelblindphase beschrieben.

Proband Nr. 277

Das Mädchen hatte initial und bei Kontrolle leicht erhöhte Bilirubinwerte, die ohne klinische Symptome waren.

Einen Tag nach der 2. Impfung entwickelte das Mädchen Fieber mit beidseitigen Sklerenikterus und Schmerzen in den unteren Extremitäten. Zwei Tage später trat zusätzlich Erbrechen auf, so dass das Mädchen stationär aufgenommen wurde.

Eine akute Hepatitis A wurde durch eine positive Serologie bestätigt. Zusätzlich entwickelte es eine Pneumonie, die antibiotisch mit Erythromycin behandelt wurde.

Eine Hämoglobin-Elektrophorese bestätigte den Verdacht einer Sichelzellanämie.

Das Mädchen wurde in gutem Allgemeinzustand mit einer Folsäuresubstitution entlassen. Es wurde aus der Studie ausgeschlossen und erhielt keine weiteren Impfungen. Eine Laborkontrolle am 11. Juli ergab normalisierte Laborparameter (s. unten).

Ergebnisse

Tabelle 13: Verlauf der Laborwerte von Proband Nr. 277

Datum	ALAT	ASAT	A P	Bilirubin gesamt	gGT	Hämoglobin	Leukozyten
18. Juni 2006	779 U/l	1594 U/l	615 U/l	379,96 mmol/l	88 U/L	7,9 g/dl	20 300 / μ l
26. Juni 2006	96 U/l	81 U/l	323 U/l	155,17 mmol/l			
11. Juli 2006	20 U/l	38 U/l		63,72 mmol/l		7,5 g/dl	20 800/ μ l

Proband Nr. 009

17 Tage nach der 2. Impfung entwickelte der Junge Fieber bis 40°C. Eine Malaria konnte mittels negativem „dicker Tropfen“ ausgeschlossen werden. Es trat ein generalisierter Krampfanfall bei Fieber über einige Minuten auf. Der Junge wurde von den Eltern im Allgemeinen Krankenhaus Lambaréné vorgestellt und dort stationär aufgenommen. Nach einer antibiotischen Therapie mit Ampicillin traten im Verlauf kein Fieber und weitere Krampfanfälle mehr auf.

Der Knabe wurde von der Studie ausgeschlossen.

Proband Nr. 001

21 Tage nach der 2. Impfung entwickelte der 33 Monate alte Junge akute Bauchschmerzen und Erbrechen. Am folgenden Tag fiel eine nicht zu reponierende Nabelhernie auf. Bei Verdacht auf eine inkarzerierte Nabelhernie wurde er sofort den Chirurgen des Albert-Schweitzer-Krankenhauses vorgestellt, die am selben Tag die Herniotomie durchführten. Der postoperative Nahrungsaufbau und Wundheilungsprozess war unauffällig. Am 5. postoperativen Tag konnte der Knabe entlassen werden.

Proband Nr. 181

6 Tage nach der dritten Impfung mit entwickelte der 31 Monate alte Junge Fieber, Husten und Durchfall. Am darauf folgenden Tag wurde er mit Tachydyspnoe, pulmonaler Obstruktion und einer Hypoxämie stationär aufgenommen. Radiologisch konnte eine Pneumonie nachgewiesen werden. Die Therapie umfasste Inhalationen mit Salbutamol und orale Antibiose mit Erythromycin. Im Blutbild zeigte sich eine mäßige Anämie mit einem Hämoglobin von 8,4 g/dl, die als infektassoziiert bewertet wurde. Bei der geplanten Kontrolle am Tag 90 war eine Anämie nicht mehr nachweisbar.

Proband Nr. 141

Der 23 Monate alte Knabe entwickelte 9 Tage nach der dritten Impfung blutige Durchfälle mit Fieber. Zunächst erfolgte die ambulante Therapie mit Metronidazol. Drei Tage später wurde der Knabe mit Dehydratation und Erbrechen stationär aufgenommen. Die antibiotische Therapie wurde um Cotrimoxazol erweitert, und er erhielt Infusionen mit einem Glukose-Elektrolyt-Gemisch.

Proband Nr. 088

Das 26 Monate alte Mädchen wurde 27 Tage nach der dritten Impfung mit akuter Gastroenteritis hospitalisiert. Am folgenden Tag konnte es nach Infusionstherapie mit einem Glukose-Elektrolyt-Gemisch wieder entlassen werden.

Proband Nr. 138

Das 25 Monate alte Mädchen wurde 30 Tage nach der dritten Impfung mit akuter blutiger Gastroenteritis hospitalisiert. Es erhielt eine Infusion mit Glukose-Elektrolyt-Gemisch und eine orale antibiotische Therapie mit Cotrimoxazol.

3.5 Laborergebnisse

Die Ergebnisse der Laborparameter – Blutbild (Leukozytenzahl, Hämoglobin, Thrombozytenzahl), ALAT, Bilirubin und Kreatinin sind in der folgenden Tabellen dargestellt. Diese wurden zu den im Studienprotokoll festgelegten Zeitpunkten bestimmt. Es wurden wenige Ergebnisse außerhalb der jeweiligen Normbereiche gefunden.

Es wurden keine Abweichungen Grad 3 gemessen.

Aufgrund fehlender Proben konnten nicht von allen Kindern die Laborparameter bestimmt werden.

Tabelle 14: Ergebnisse von Hämoglobin, Leukozyten und Thrombozyten

Parameter	Kategorie	Gruppe 1		Gruppe 2	
		Anzahl	%	Anzahl	%
Hämoglobin Tag 0	normal	90	100	90	100
Hämoglobin Tag 6	normal	85	100	86	100
	fehlend	5	-	4	-
Hämoglobin Tag 90	normal	77	100	82	100
	fehlend	13	-	8	-
Hämoglobin Monat 14	normal	63	100	61	100
	fehlend	27	-	29	-
Leukozyten Tag 0	normal	90	100	90	100
Leukozyten Tag 6	normal	85	100	86	100
	fehlend	5	-	4	-
Leukozyten Tag 90	normal	77	100	80	98.8
	fehlend	13	-	9	-
	Schädigungsgrad 1	0	0.0	1	1.2
Leukozyten Monat 14	normal	63	100	61	100
	fehlend	27	-	29	-
Thrombozyten Tag 0	normal	90	100	90	100
Thrombozyten Tag 6	normal	85	100	86	100
	fehlend	5	-	4	-
	Schädigungsgrad 1	1	1.3	0	0.0
	Schädigungsgrad 2	1	1.3	0	0.0
Thrombozyten Tag 90	normal	75	97.4	82	100
	fehlend	13	-	8	-
Thrombozyten Monat 14	normal	63	100	61	100
	fehlend	27	-	29	-

Ergebnisse

Die Abbildung 7 zeigt den Verlauf der Werte der einzelnen Parameter des Blutbildes über den gesamten Studienverlauf.

Die Mittelwerte der Ergebnisse lagen dabei im Normbereich. Sie waren vergleichbar in beiden Gruppen

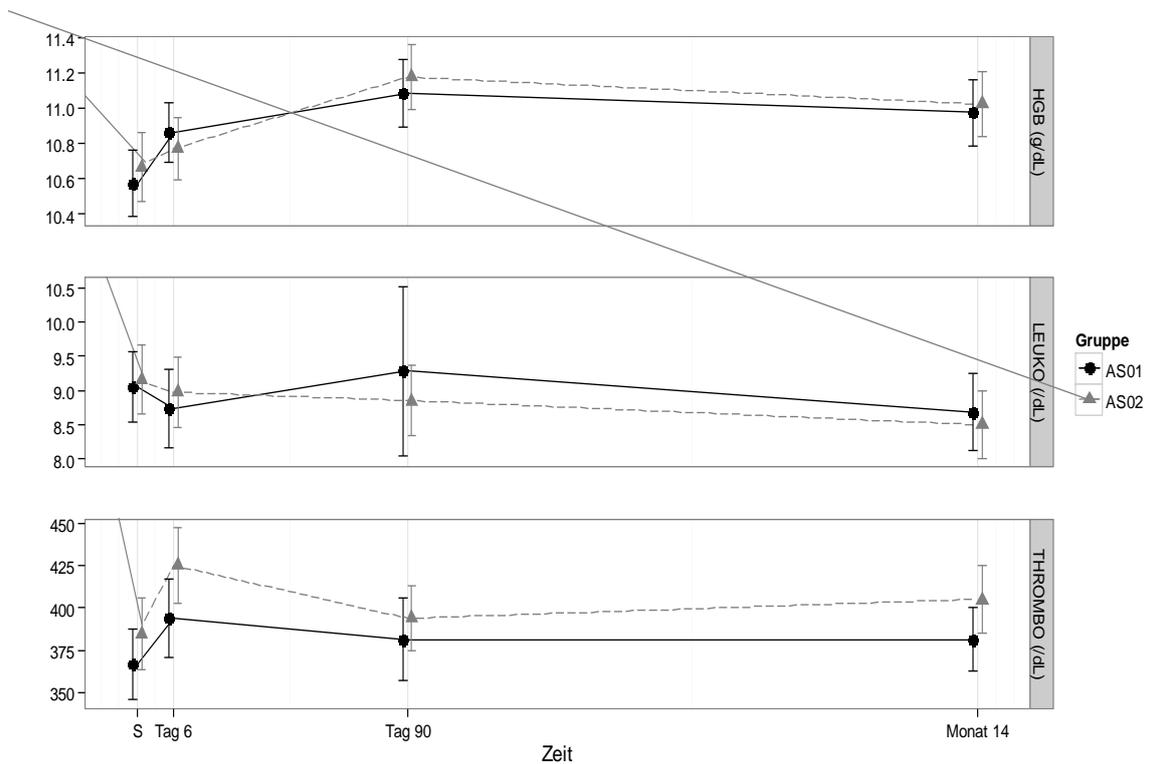


Abbildung 7: Mittelwerte und 95% Konfidenzintervall von Hämoglobin, Leukozyten und Thrombozyten über den gesamten Zeitraum

S= Screening, HGB= Hämoglobin, Leuko= Leukozyten, Thrombo= Thrombozyten

Die Ergebnisse der Leber- und Nierenwerte zeigte selten Werte außerhalb des Normbereiches. Keimal wurden Werte mit dem Schädigungsgrad 3 gefunden.

Ergebnisse

Table 15 Ergebnisse von ALT, Kreatinin und Bilirubin

Parameter	Kategorie	Gruppe 1		Gruppe 2	
		Anzahl	%	Anzahl	%
ALT Tag 0	normal	90	100	90	100
ALT Tag 6	normal	85	100	85	98.8
	fehlend	5	-	4	-
	Schädigungsgrad 1	0	0.0	1	1.2
ALT Tag 90	normal	76	100	79	100
	fehlend	14	-	11	-
ALT Monat 14	normal	62	98.4	58	96.7
	fehlend	27	-	30	-
	Schädigungsgrad 1	1	1.6	1	1.7
	Schädigungsgrad 2	0	0.0	1	1.7
Kreatinin Tag 0	Normal	89	100	90	100
	fehlend	1	-	0	0.0
Kreatinin Tag 6	normal	83	97.6	86	100
	fehlend	5	-	4	-
	Schädigungsgrad 1	2	2.4	0	0.0
Kreatinin Tag 90	normal	76	100	78	100
	fehlend	14	-	12	-
Kreatinin Monat 14	normal	63	100	60	100
	fehlend	27	-	30	-
Bilirubin Tag 0	normal	86	95.6	88	97.8
	abnormal	4	4.4	2	2.2
Bilirubin Tag 6	normal	84	98.8	85	98.8
	fehlend	5	-	4	-
	abnormal	1	1.2	1	1.2
Bilirubin Tag 90	normal	74	97.4	77	97.5
	fehlend	14	-	11	-
	abnormal	2	2.6	2	2.5
Bilirubin Monat 14	normal	58	96.7	59	98.3
	fehlend	30	-	30	-
	abnormal	2	3.3	1	1.7

Die Abbildung 8 zeigt den Verlauf der Mittelwerte der Ergebnisse von Leber- und Nierenfunktionswerte über den gesamten Studienzeitraum.

Ergebnisse

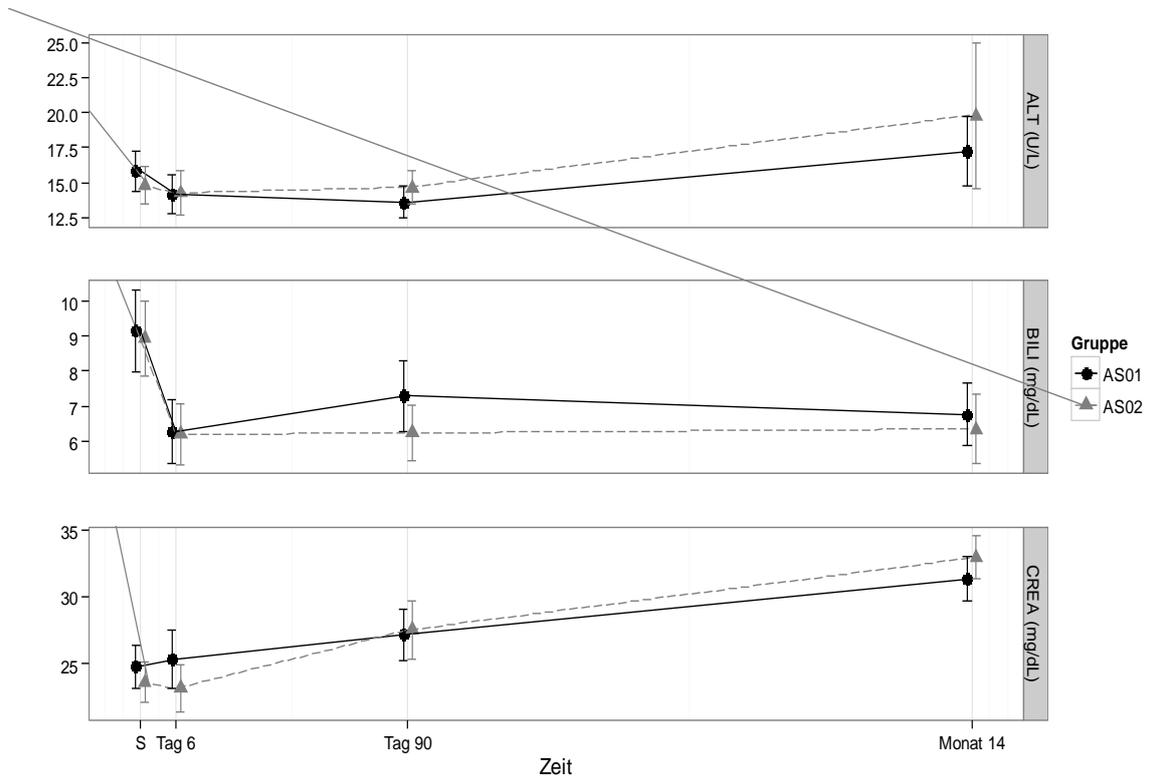


Abbildung 8: Mittelwerte und 95% Konfidenzintervalle von ALT, Bilirubin und Kreatinin über den gesamten Zeitraum

ALT= Alanin-Transferase, Bili= Bilirubin, Crea= Kreatinin

4. Diskussion

Malaria ist immer noch die häufigste Infektionskrankheit in den Tropen. Nach den letzten im Dezember 2013 veröffentlichten Daten der WHO verstarben 2012 etwa 627000 Menschen an der *Malaria tropica*.

Dabei sind hauptsächlich Kinder unter 5 Jahren im subsaharischen Afrika betroffen. Auch wenn die Erkrankungsrate seit 2000 um mehr als die Hälfte gesenkt werden konnte, verstirbt etwa jede Minute ein Kind an Malaria (WHO Malaria Factsheet Nr 94 2014).

Die bisher bestehenden Präventionsmaßnahmen haben die Infektionsrate deutlich reduzieren können. Dabei spielt bislang die Kontrolle der Übertragung durch die *Anopheles* Mücke die wichtigste Rolle.

Durch eine deutlich verbesserte Therapiemöglichkeit mit Artemisinin-Kombinationspräparaten und die rasche Diagnostik durch Mikroskopieren eines „Dicken Tropfen“ oder Schnelltesten konnte die Häufigkeit der Erkrankungen und daraus resultierenden Todesfällen ebenfalls verringert werden.

Dennoch ist als zusätzliche Maßnahme die Entwicklung eines effektiven Impfstoffes ein wichtiger Aspekt der Bekämpfung der Malaria.

GSK ist seit Mitte der 1980 Jahre an der Entwicklung des Malariimpfstoffes RTS,S beteiligt, dessen Integration in das Impfprogramm (EPI) der WHO geplant ist. Da der Impfstoff primär an Kinder gegeben werden soll, ist es wichtig, dass dieser sicher und effektiv ist.

In der hier vorgelegten Studie wurden die Verträglichkeit und Sicherheit von RTS,S mit den zwei unterschiedlichen Adjuvanzen AS01 und AS02 verglichen. Dabei wurde das erste Mal RTS,S in Verbindung mit dem Adjuvans AS01 an Kinder verabreicht.

Die Daten der Studien mit Erwachsenen zeigten das RTS,S/AS01 ebenso sicher ist und gut toleriert wird wie RTS,S/AS02. Die Wahl RTS,S/AS01 auch bei Kindern einzusetzen, beruhte auf einer höheren humoralen Immunantwort und damit einer besseren Effektivität des Impfstoffes (Kester et al., 2009).

4.1. Erwartete Symptome

Gemäß des Protokolls wurden alle Kinder für eine Stunde nach der Verabreichung des Impfstoffes überwacht. Dabei trat keine anaphylaktische Sofortreaktion auf. Sie tritt in der Regel nur in 1-10 von 1.000.000 Impfdosen auf (Rüggeberg et al., 2007). Bislang wurden keine anaphylaktischen Reaktionen nach Gabe von RTS,S unabhängig vom Adjuvans beschrieben.

Die lokale erwartete Reaktion wie Schmerz trat mit zunehmender Häufigkeit mit steigender Impfdosis auf. Dieses wurde auch in vorherigen Studien beobachtet (Macete et al., 2007).

Schmerz wurde nach der dritten Gabe mit über 80% in beiden Gruppen angegeben, Stärke 3 wurde nicht dokumentiert. Dieses Symptom wird in ähnlicher Häufigkeit (bis zu 80%) bei inaktivierten Vakzinen, insbesondere, wenn diese ein Adjuvans enthalten, beschrieben (CDC, The Pink Book). Diese Reaktionen zeigten sich in beiden Gruppen selbstlimitierend.

Auch die Häufigkeit der Schwellung nahm mit zunehmender Impfdosis zu. Sie trat etwas seltener in Gruppe 1 auf. In beiden Gruppen kam es nach der 2. Impfdosis bei einem Kind zu einer Schwellung von mehr als 20 mm, die zeitgerecht wieder abgeklungen war. Diese Erscheinungen wurden bereits in den Studien in mit RTS,S/AS02 in Mozambik bei Kindern beobachtet (Sacarlal et al., 2008).

Dieses scheint an der lokalen Reaktion zwischen Antigen, Antikörpern und T-Zellen zu liegen. Ähnliche Wirkungen wurden auch bei anderen Impfstoffen beobachtet (Lell et al., 2009).

In mehreren Studien lösten RTS,S/AS02 und RTS,S/AS01 häufiger lokale Reaktion aus als die Kontrollimpfstoffe, die nicht AS02 oder AS01 enthielten (Owusu-Agyei et al., 2009), (Macete et al., 2007).

Fieber trat in Gruppe 2 häufiger auf als in Gruppe 1. Dieser Unterschied war nicht signifikant. In einer anderen Studie wurde Fieber mit einer höheren Häufigkeit beobachtet (Abdulla et al., 2008).

Appetitverlust wurde in beiden Gruppen am häufigsten nach der dritten Dosis beschrieben ohne signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Dieses

konnte mit der entsprechenden Sensibilisierung der Eltern zu tun haben, die besser auf dieses Symptom im Verlauf geachtet haben.

Wie auch schon die lokalen Symptome häufiger nach der Gabe von RTS,S/AS02 als den Kontrollimpfstoffen auftraten, wurde dieses auch für die allgemeinen Symptome berichtet (Sacarlal et al., 2008).

4.2 Verlauf der Laborwerte

In beiden Gruppen konnten keine signifikanten Veränderungen der Laborwerte durch die Impfstoffe gefunden werden. Alle auffälligen Werte lagen bei Kontrolle im Normbereich.

Dieses wurde auch bei anderen Studien mit RTS,S beobachtet. Wurden Laborwerte außerhalb des Normbereiches gemessen, so waren die Ursachen meist akute Infektionen (Sacarlal et al., 2008).

4.3 Unerwünschte Ereignisse

Während des ersten Teils der Studie sahen wir in beiden Gruppen die gleiche Anzahl an unerwarteten Symptomen, wie man sie bei Kindern dieses Alters erwarten würde. Bei keinem der Symptome konnte ein kausaler Zusammenhang zu den Impfstoffen gefunden werden.

Während der Doppelblindphase wurden zwei Kinder wegen schwerer unerwünschter Ereignisse von der Studie ausgeschlossen.

Bei einem Mädchen wurde im Rahmen einer akuten Hepatitis A Infektion eine Sichelzellanämie diagnostiziert. Sie wurde regelmäßig in der Pädiatrie des Albert-Schweitzer-Krankenhauses betreut. Dieses Mädchen wäre initial - hätte man von der bestehenden Sichelzellanämie gewusst - nicht in die Studie eingeschlossen worden.

Ein Junge erlitt im Rahmen einer akuten Infektion einen Krampfanfall bei Fieber, der nicht im kausalen Zusammenhang mit der Impfung vermutet wurde. Es wurde beschlossen, ihn von der Studie auszuschließen, da das Risiko eines weiteren Krampfanfalls bei erneuter Impfung bestand.

Bislang wurden zwei Fälle von Krampfanfällen bei Fieber, welches durch den Studienimpfstoff ausgelöst wurde beschrieben (Owusu-Agyei et al., 2009).

Alle übrigen schweren unerwünschten Ereignisse waren akute Erkrankungen, die in der Pädiatrie des Albert-Schweitzer-Krankenhauses behandelt werden konnten. Bei den meisten Fällen handelte es sich um Infektionskrankheiten, wie sie bei Kindern in diesem Alter auftreten können.

Auch in bisher durchgeführten Studien wurde die Gabe von RTS,S nicht als Ursache für einfache und schwere unerwünschten Ereignisse gewertet (Macete et al., 2007).

4.4 Metastudien von Impfnebenwirkungen

Impfungen sind eine große Errungenschaft des Gesundheitswesens, da sie durch die weiterverbreitete Anwendung zur Elimination und drastischen Reduktion von Erkrankungen geführt haben.

Da dabei gesunde Kinder und Erwachsene geimpft werden, ist es wichtig, dass es ein effektives System gibt, um Nebenwirkungen nach Impfungen zu erfassen und wenn nötig auch darauf zu reagieren (Wharton, 2010). In der Vergangenheit mußte ein in den USA zugelassener Rotavirus-Impfstoff (Rotashild®) aufgrund einer Assoziation mit Darminvagination wieder vom Markt genommen werden (Robert-Koch-Institut).

Es besteht ein von der WHO gegründetes Komitee zur globalen Unterstützung in Fragen zur Sicherheit von Impfstoffen (The Global Advisory Committee for Vaccine Safety - GACVS). Dieses hat zur Aufgabe Krankheitssymptome, die im zeitlichen Zusammenhang zu gegebenen Impfstoffen stehen, zu untersuchen.

Die Brighton Collaboration wurde 1999 gegründet, um Standards zur Einschätzung der Sicherheit von Impfungen zu erstellen. Dabei wurden Falldefinitionen eingeführt für Symptome, die nach Impfungen auftreten können (Adverse events following immunizations, AEFI). Diese gelten für bereits eingeführte Impfungen und Impfstoffe, die sich noch in Studien befinden. Zu den AEFI werden erwartete und unerwartete Symptome gezählt. Schmerz und Schwellung werden als die häufigsten lokalen Reaktion angegeben (Gidudu et al., 2012), (Kohl et al., 2007).

In klinischen Studien trat Fieber typischerweise bei bis zu 10% der geimpften Personen auf. Wurden Kombinationsimpfstoffe verabreicht, konnte die Häufigkeit

auf bis zu 30% ansteigen. Das Fieber war selbstlimitierend und selten höher als 39°C (Kohl et al., 2004).

4.5 Andere Adjuvanzien der „AS“-Gruppe

Neben den beiden Adjuvanzien AS01 und AS02 hat GSK weitere Adjuvansysteme entwickelt. AS03 ist eine auf Alpha-Tocopherol basierende Öl-in-Wasser Emulsion. AS04 setzt sich aus MPL und Aluminiumsalzen zusammen. Beide Adjuvanzien AS03 und AS04 werden in Impfstoffen verwendet, die bereits zugelassen sind.

Cervarix® und Fendrix® enthalten beide das Adjuvans AS04. Beide Impfstoffe zeigten in Studien gute Sicherheitsprofile (Lim et al., 2014), (Beran, 2008), vergleichbar mit dem von RTS,S/AS01.

Für die Influenza Epidemie 2009 in Deutschland wurde ein Impfstoff verwendet, der AS03 enthielt. In einer in Asien durchgeführten Phase III Studie wurde dieser Impfstoff gut vertragen (Chu et al., 2009). In Deutschland dagegen war das Risiko nach dieser Impfung an einem Guillain-Barré-Syndrom zu erkranken erhöht (Prestel et al., 2014).

Das Adjuvans AS02 wurde in weiteren Studien mit einem Hepatitis-B-Impfstoff verwendet, der im Vergleich zu Fendrix® höhere Titer an Anti-HBs- Antikörper bei Patienten mit Niereninsuffizienz auslösen soll (Surquin et al., 2011).

In einer Studie mit einem neuen Impfstoff gegen Herpes zoster traten in der Gruppe, die diesen Impfstoff mit dem Adjuvans AS01 erhielt, mehr lokale erwartete Symptome auf, als in der Kontrollgruppe ohne Adjuvans. Zwischen 70 und 83% der erwachsenen Probanden klagten über Schmerzen an der Injektionsstelle (Chlibek et al., 2013).

In einer mit HIV-positiven Erwachsenen durchgeführten Studie mit einem Tuberkulose-Impfstoff, der AS01 enthielt, wurde ebenfalls Schmerz an der Injektionsstelle mit einer Häufigkeit von bis zu 90% angegeben (Thacher et al., 2014).

Die hier beschriebenen Impfstoffe zeigten häufig lokale Reaktionen nach der Applikation. Da diese aber selbstlimitierend waren und selten in der Stärke 3 auftraten, wurden diese Ergebnisse als akzeptabel eingestuft. Wie bereits

erwähnt wurde, sind diese Reaktionen bei Impfstoffen, die Adjuvanzien enthalten, häufig zu erwarten.

4.6 Weitere Studien mit RTS,S

Bevor 2009 die große Phase III Studie begann, wurden weitere Phase II Studien mit RTS,S/AS01 durchgeführt.

Wurde RTS,S/AS01 Säuglingen parallel zu den Standardimpfungen des Impfprogrammes der WHO gegeben, trat bei ihnen häufiger Fieber auf, als wenn nur die Standardimpfungen gegeben wurden. (Agnandji et al., 2010).

In anderen Studien, in denen Kinder unterschiedlichen Alters geimpft wurden, konnte gesehen werden, dass jüngere Kinder häufiger Fieber nach einer Impfung entwickelten (Sacarlal et al., 2008).

Zwischen März 2009 und Januar 2011 wurden über 15.000 Kinder in zwei Altersgruppen - 6 bis 12 Wochen und 5 bis 17 Monate - in die Phase III Studie mit RTS,S/AS01 im Vergleich zu einer Kontrollimpfstoff an 11 Studienorten in 7 afrikanischen Ländern eingeschlossen.

Die ersten Daten zeigten, dass es häufiger zu zu erwartenden Symptome nach der Gabe von RTS,S/AS01 als des Kontrollimpfstoffs kam. RTS,S konnte die Fälle klinischer Malaria bei den Kindern zwischen 5 und 17 Monaten über einen Zeitraum von 12 Monaten um die Hälfte reduzieren (Agnandji et al., 2011a).

In der Gruppe der jüngeren Kinder dieser Studie zeigte RTS,S eine geringere Effektivität gegen Malariainfektionen, als es in den Phase II Studien gesehen wurde. Lokale und allgemeine Symptome traten häufiger nach Gabe von RTS,S als den Kontrollimpfstoffen auf (RTS,S Clinical Trials Partnership et al., 2012).

4.7 Schlussfolgerungen

Diese Studie zeigte, dass die Malariavakzinekandidaten RTS,S/AS01 und RTS,S/AS02 gut verträglich waren. Beide Impfstoffe führten in ähnlicher Häufigkeit zu lokalen und allgemeinen erwarteten Symptomen. In beiden Gruppen traten unerwartete Ereignisse mit einer vergleichbaren Anzahl auf. Bei keinem dieser Ereignisse konnte ein kausaler Zusammenhang mit den Impfstoffen bestätigt werden. Signifikante Veränderungen der Leber- und

Nierenfunktionswerte, sowie des Blutbildes durch die Impfstoffe konnten nicht festgestellt werden.

Im Anschluss an diese Studie wurden bereits weitere Studien mit RTS,S/AS01 durchgeführt.

Die Phase III Studie ist bereits abgeschlossen worden. Dabei wurden wesentliche jüngere Kinder geimpft, die zusätzlich parallel die Standardimpfungen des WHO Impfprogrammes erhielten. Diese Studie zeigte, dass, je mehr Impfungen gleichzeitig gegeben wurden, umso häufiger allgemeine Symptome aufgetreten waren.

Dennoch wäre es ein großer Schritt, wenn RTS,S mit den Standardimpfungen gegeben werden könnte, da so durch die bereits etablierten Programme der Großteil der Kinder erreicht werden könnte. Für diese Entscheidung sind die vollständigen Ergebnisse der Phase III Studie wichtig und abzuwarten.

Die Absicht AS01 als einziges Adjuvans für folgende Studien mit RTS,S einzusetzen, ist nach den hier vorgelegten Ergebnissen gerechtfertigt.

5. Zusammenfassung

Diese Phase II Doppelblind-Studie erfolgte, um die Sicherheit und Verträglichkeit des Malariaimpfstoffkandidaten RTS,S mit den zwei unterschiedlichen Adjuvanzen AS01 und AS02 zu vergleichen.

Dafür wurden 180 Kinder zwischen 18 Monaten und 4 Jahren in die Studie eingeschlossen. Sie erhielten randomisiert RTS,S/AS01 oder RTS,S/AS02. Jedes Kind erhielt 3 Impfdosen im Abstand von jeweils einem Monat. Alle Kinder wurden direkt nach der Impfung für eine Stunde überwacht. Nach jeder Impfung schloss sich eine 6 tägige tägliche Verlaufskontrolle an. Bis zum Ende der Studie wurden die Kinder einmal monatlich aufgesucht. Es erfolgte eine aktive und passive Ermittlung von unerwünschten Ereignissen. Zu vier festgelegten Zeitpunkten wurden Blutbild, Leber- und Nierenfunktionswerte und Bilirubin überprüft.

Beide Impfstoffe wurden gut vertragen und zeigten ein gutes Sicherheitsprofil. Die lokalen erwarteten Symptome Schmerz und Schwellung traten im Verlauf mit zunehmender Impfdosis häufiger auf. Alle unerwünschten einfachen und schweren Ereignisse standen nicht im Zusammenhang mit den Impfstoffen.

Impfstoffbedingte Veränderungen der Laborwerte sahen wir nicht.

Die Ergebnisse dieser Studie sollten die Entscheidung unterstützen, RTS,S/AS01 für die Phase III zu verwenden.

6. Abkürzungen

AEFI	Adverse events following immunizations
ALT	Alanin-Aminontransferase
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CERMEL	Centre de Recherches Médicales de Lambaréné
CSP	Zirkumsporozoiten-Protein
DSMB	Data and Safety Monitoring Board
EPI	Expanded Programme on Immunization
gGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GACVS	Global Advisory Committee for Vaccine Safety
GSK	GlaxoSmithKline
ICH	International Conference of Harmony
IPTi	Intermittent Preventive Treatment in infants
IPTp	Intermittent Preventive Treatment in pregnancy
LSM	Local Safety Monitor
MedDRA	Medical Dictionary for Regulatory Activities
MVI	Malaria Vaccine Initiative
PATH	Program for Appropriate Technology in Health
WHO	World Health Organisation
WRAIR	Walter Reed Army Institute of Research

7. Abbildungen und Tabellen

7.1 Abbildungen

Abbildung 1: Lebenszyklus der Plasmodien	Seite 7
Abbildung 2: Verlaufsdiagramm der Studie	Seite 28
Abbildung 3: Häufigkeit der erwarteten allgemeinen Symptome der Gruppe 1 pro Impfdosis	Seite 32
Abbildung 4: Häufigkeit der erwarteten allgemeinen Symptome der Gruppe 2 pro Impfdosis	Seite 32
Abbildung 5 Häufigkeit der erwarteten lokalen Symptome der Gruppe 1 pro Impfdosis und Auftreten von Schwellung > 20 mm	Seite 33
Abbildung 6 Häufigkeit der erwarteten lokalen Symptome der Gruppe 3 pro Impfdosis und Auftreten von Schwellung > 20 mm	Seite 34
Abbildung 7 Mittelwerte und 95 % Konfidenzintervalle von Hämoglobin, Leukozyten und Thrombozyten über den gesamten Zeitraum	Seite 43
Abbildung 8 Mittelwerte und 95% Konfidenzintervalle von ALT, Bilirubin und Kreatinin über den gesamten Zeitraum	Seite 45

7.2 Tabellen

Tabelle 1	Zusammensetzung der Malariavakzinekandidaten	Seite 15
Tabelle 2	Übersicht des Studiendesigns und Prozeduren	Seite 17
Tabelle 3	Intensitäts-Skala für erwartete Symptome bei Kindern unter 6 Jahren	Seite 22
Tabelle 4	Normwerte der Laborparameter	Seite 23
Tabelle 5	Laborwerte und Einteilung der Schädigungsgrade	Seite 24

Tabelle 6	Erwartete Symptome insgesamt während Tag 1 bis 6 nach den Impfungen	Seite 29
Tabelle 7	Erwartete allgemeine Symptome insgesamt und Auftreten von Grad 3 eines Symptomes je einzelne Impfdosis	Seite 30
Tabelle 8	Erwartete allgemeine Symptome pro Dosis	Seite 31
Tabelle 9	Auftreten der erwarteten allgemeinen Symptome pro Kind	Seite 31
Tabelle 10	Erwartete lokale Symptome pro Dosis und pro Proband	Seite 33
Tabelle 11	Anzahl und prozentuale Häufigkeit von unerwarteten Symptomen	Seite 35
Tabelle 12	Schwere unerwünschte Ereignisse über den gesamten Zeitraum	Seite 38
Tabelle 13	Verlauf der Laborwerte von Proband Nr. 277	Seite 40
Tabelle 14	Ergebnisse von Hämoglobin, Leukozyten und Thrombozyten	Seite 42
Tabelle 15	Ergebnisse von ALT, Kreatinin und Bilirubin	Seite 44

8. Quellenangaben

Abdulla, S., Oberholzer, R., Juma, O., Kubhoja, S., Machera, F., Membi, C., Omari, S., Urassa, A., Mshinda, H., Jumanne, A., et al. (2008a). Safety and immunogenicity of RTS,S/AS02D malaria vaccine in infants. *N. Engl. J. Med.* 359, 2533–2544.

Agnandji, S.T., Asante, K.P., Lyimo, J., Vekemans, J., Soulanoudjingar, S.S., Owusu, R., Shomari, M., Leach, A., Fernandes, J., Dosoo, D., et al. (2010). Evaluation of the safety and immunogenicity of the RTS,S/AS01E malaria candidate vaccine when integrated in the expanded program of immunization. *J. Infect. Dis.* 202, 1076–1087.

Agnandji, S.T., Lell, B., Soulanoudjingar, S.S., Fernandes, J.F., Abossolo, B.P., Conzelmann, C., Methogo, B.G.N.O., Doucka, Y., Flamen, A., Mordmüller, B., et al. (2011a). First results of phase 3 trial of RTS,S/AS01 malaria vaccine in African children. *N. Engl. J. Med.* 365, 1863–1875.

Agnandji, S.T., Fendel, R., Mestré, M., Janssens, M., Vekemans, J., Held, J., Gnansounou, F., Haertle, S., von Glasenapp, I., Oyakhirome, S., et al. (2011b). Induction of Plasmodium falciparum-specific CD4+ T cells and memory B cells in Gabonese children vaccinated with RTS,S/AS01(E) and RTS,S/AS02(D). *PloS One* 6, e18559.

Alonso, P.L., Sacarlal, J., Aponte, J.J., Leach, A., Macete, E., Milman, J., Mandomando, I., Spiessens, B., Guinovart, C., Espasa, M., et al. (2004). Efficacy of the RTS,S/AS02A vaccine against Plasmodium falciparum infection and disease in young African children: randomised controlled trial. *Lancet* 364, 1411–1420.

Aponte, J.J., Aide, P., Renom, M., Mandomando, I., Bassat, Q., Sacarlal, J., Manaca, M.N., Lafuente, S., Barbosa, A., Leach, A., et al. (2007). Safety of the RTS,S/AS02D candidate malaria vaccine in infants living in a highly endemic area of Mozambique: a double blind randomised controlled phase I/IIb trial. *Lancet* 370, 1543–1551.

Ballou, W.R., and Cahill, C.P. (2007). Two decades of commitment to malaria vaccine development: GlaxoSmithKline Biologicals. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 77, 289–295.

Beran, J. (2008). Safety and immunogenicity of a new hepatitis B vaccine for the protection of patients with renal insufficiency including pre-haemodialysis and haemodialysis patients. *Expert Opin. Biol. Ther.* 8, 235–247.

Bojang, K.A., Olodude, F., Pinder, M., Ofori-Anyinam, O., Vigneron, L., Fitzpatrick, S., Njie, F., Kassanga, A., Leach, A., Milman, J., et al. (2005). Safety and immunogenicity of RTS,S/AS02A candidate malaria vaccine in Gambian children. *Vaccine* 23, 4148–4157.

Casares, S., Brumeanu, T.-D., and Richie, T.L. (2010). The RTS,S malaria vaccine. *Vaccine* 28, 4880–4894.

The Pink Book

<http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/genrec.html> (Zugriff 11.6.14)

Chlibek, R., Bayas, J.M., Collins, H., de la Pinta, M.L.R., Ledent, E., Mols, J.F., and Heineman, T.C. (2013). Safety and Immunogenicity of an AS01-adjuvanted Varicella-zoster Virus Subunit Candidate Vaccine Against Herpes Zoster in Adults >=50 Years of Age. *J. Infect. Dis.* 208, 1953–1961.

Chu, D.W.-S., Hwang, S.-J., Lim, F.S., Oh, H.M.L., Thongcharoen, P., Yang, P.-C., Bock, H.L., Dramé, M., Gillard, P., Hutagalung, Y., et al. (2009). Immunogenicity and tolerability of an AS03A-adjuvanted pre-pandemic influenza vaccine: A phase III study in a large population of Asian adults. *Vaccine* 27, 7428–7435.

Cohen, J., Nussenzweig, V., Nussenzweig, R., Vekemans, J., and Leach, A. (2010). From the circumsporozoite protein to the RTS, S/AS candidate vaccine. *Hum. Vaccin.* 6, 90–96.

Doherty, J.F., Pinder, M., Tornieporth, N., Carton, C., Vigneron, L., Milligan, P., Ballou, W.R., Holland, C.A., Kester, K.E., and Voss, G. (1999). A phase I safety and immunogenicity trial with the candidate malaria vaccine RTS, S/SBAS2 in semi-immune adults in The Gambia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 61, 865–868.

Garçon, N., Heppner, D.G., and Cohen, J. (2003). Development of RTS,S/AS02: a purified subunit-based malaria vaccine candidate formulated with a novel adjuvant. *Expert Rev. Vaccines* 2, 231–238.

Gidudu, J.F., Walco, G.A., Taddio, A., Zempsky, W.T., Halperin, S.A., Calugar, A., Gibbs, N.A., Hennig, R., Jovancevic, M., Netterlid, E., et al. (2012). Immunization site pain: Case definition and guidelines for collection, analysis, and presentation of immunization safety data. *Vaccine* 30, 4558–4577.

Heppner, D.G., Gordon, D.M., Gross, M., Wellde, B., Leitner, W., Krzych, U., Schneider, I., Wirtz, R.A., Richards, R.L., and Trofa, A. (1996). Safety, immunogenicity, and efficacy of *Plasmodium falciparum* repeatless circumsporozoite protein vaccine encapsulated in liposomes. *J. Infect. Dis.* 174, 361–366.

Kester, K.E., Cummings, J.F., Ofori-Anyinam, O., Ockenhouse, C.F., Krzych, U., Moris, P., Schwenk, R., Nielsen, R.A., Debebe, Z., Pinelis, E., et al. (2009). Randomized, Double-Blind, Phase 2a Trial of *Falciparum* Malaria Vaccines RTS,S/AS01B and RTS,S/AS02A in Malaria-Naive Adults: Safety, Efficacy, and Immunologic Associates of Protection. *J. Infect. Dis.* 200, 337–346.

Kohl, K.S., Marcy, S.M., Blum, M., Jones, M.C., Dagan, R., Hansen, J., Nalin, D., and Rothstein, E. (2004). Fever after Immunization: Current Concepts and Improved Future Scientific Understanding. *Clin. Infect. Dis.* 39, 389–394.

Kohl, K.S., Walop, W., Gidudu, J., Ball, L., Halperin, S., Hammer, S.J., Heath, P., Varricchio, F., Rothstein, E., Schuind, A., et al. (2007). Swelling at or near injection site: Case definition and guidelines for collection, analysis and presentation of immunization safety data. *Vaccine* 25, 5858–5874.

Lell, B., Agnandji, S., von Glasenapp, I., Haertle, S., Oyakhiromen, S., Issifou, S., Vekemans, J., Leach, A., Lievens, M., Dubois, M.-C., et al. (2009). A randomized trial assessing the safety and immunogenicity of AS01 and AS02 adjuvanted RTS,S malaria vaccine candidates in children in Gabon. *PLoS One* 4, e7611.

Lim, B.K., Ng, K.Y., Omar, J., Omar, S.Z., Gunapalaiah, B., Teoh, Y.L., Bock, H.L., and Bi, D. (2014). Immunogenicity and Safety of the AS04-adjuvanted Human Papillomavirus-16/18 Cervical Cancer Vaccine in Malaysian Women Aged 18-35 years: A Randomized Controlled Trial. *Med. J. Malaysia* 69, 2–8.

Macete, E., Aponte, J.J., Guinovart, C., Sacarlal, J., Ofori-Anyinam, O., Mandomando, I., Espasa, M., Bevilacqua, C., Leach, A., Dubois, M.C., et al. (2007). Safety and immunogenicity of the RTS,S/AS02A candidate malaria vaccine in children aged 1-4 in Mozambique. *Trop. Med. Int. Health* 12, 37–46.

Mata, E., Salvador, A., Igartua, M., Hernández, R.M., and Pedraz, J.L. (2013). Malaria vaccine adjuvants: latest update and challenges in preclinical and clinical research. *BioMed Res. Int.* 2013, 282913.

Nussenzweig, V., and Nussenzweig, R.S. (1989). Rationale for the development of an engineered sporozoite malaria vaccine. *Adv. Immunol.* 45, 283–334.

Owusu-Agyei, S., Ansong, D., Asante, K., Kwarteng Owusu, S., Owusu, R., Wireko Brobbey, N.A., Dosoo, D., Osei Akoto, A., Osei-Kwakye, K., Adjei, E.A., et al. (2009). Randomized Controlled Trial of RTS,S/AS02D and RTS,S/AS01E Malaria Candidate Vaccines Given According to Different Schedules in Ghanaian Children. *PLoS ONE* 4, e7302.

PATH Malaria Vaccine Initiative (MVI)

<http://www.malariavaccine.org/malvac-lifecycle.php> (Zugriff 15.5.14)

Polhemus, M.E., Remich, S.A., Ogutu, B.R., Waitumbi, J.N., Otieno, L., Apollo, S., Cummings, J.F., Kester, K.E., Ockenhouse, C.F., Stewart, A., et al. (2009). Evaluation of RTS,S/AS02A and RTS,S/AS01B in adults in a high malaria transmission area. *PLoS One* 4, e6465.

Prestel, J., Volkens, P., Mentzer, D., Lehmann, H.C., Hartung, H.-P., Keller-Stanislawski, B., and for the GBS Study Group (2014). Risk of Guillain-Barré

syndrome following pandemic influenza A(H1N1) 2009 vaccination in Germany. *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.*

Robert-Koch-Institut

http://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/Impfen/Rota/FAQ-Liste_Rotavirus_Impfen.html#f4210332 (Zugriff 29.6.14)

RTS,S Clinical Trials Partnership, Agnandji, S.T., Lell, B., Fernandes, J.F., Abossolo, B.P., Methogo, B.G.N.O., Kabwende, A.L., Adegnika, A.A., Mordmüller, B., Issifou, S., et al. (2012). A phase 3 trial of RTS,S/AS01 malaria vaccine in African infants. *N. Engl. J. Med.* 367, 2284–2295.

Rüggeberg, J.U., Gold, M.S., Bayas, J.-M., Blum, M.D., Bonhoeffer, J., Friedlander, S., de Souza Brito, G., Heininger, U., Imoukhuede, B., Khamesipour, A., et al. (2007). Anaphylaxis: case definition and guidelines for data collection, analysis, and presentation of immunization safety data. *Vaccine* 25, 5675–5684.

Sacarlal, J., Aponte, J.J., Aide, P., Mandomando, I., Bassat, Q., Guinovart, C., Leach, A., Milman, J., Macete, E., Espasa, M., et al. (2008). Safety of the RTS,S/AS02A malaria vaccine in Mozambican children during a Phase IIb trial. *Vaccine* 26, 174–184.

Stoute, J.A., Slaoui, M., Heppner, D.G., Momin, P., Kester, K.E., Desmons, P., Welde, B.T., Garçon, N., Krzych, U., and Marchand, M. (1997). A preliminary evaluation of a recombinant circumsporozoite protein vaccine against *Plasmodium falciparum* malaria. RTS,S Malaria Vaccine Evaluation Group. *N. Engl. J. Med.* 336, 86–91.

Surquin, M., Tielemans, C., Nortier, J., Jadoul, M., Peeters, P., Ryba, M., Roznovsky, L., Domán, J., Barthelemy, X., Crasta, P.D., et al. (2011). Anti-HBs antibody persistence following primary vaccination with an investigational AS02(v)-adjuvanted hepatitis B vaccine in patients with renal insufficiency. *Hum. Vaccin.* 7, 913–918.

Sylla, E., Lell, B., Kremsner P., and Kun, J. (2001). *Plasmodium falciparum* transmission intensity and infection rates in children in Gabon. *Parasitol. Res.* 87, 530–533.

Thacher, E.G., Cavassini, M., Audran, R., Thierry, A.-C., Bollaerts, A., Cohen, J., Demoitié, M.-A., Ejigu, D., Mettens, P., Moris, P., et al. (2014). Safety and immunogenicity of the M72/AS01 candidate tuberculosis vaccine in HIV-infected adults on combination antiretroviral therapy: a phase I/II, randomized trial. *AIDS Lond. Engl.*

Vreden, S.G., Verhave, J.P., Oettinger, T., Sauerwein, R.W., and Meuwissen, J.H. (1991). Phase I clinical trial of a recombinant malaria vaccine consisting of the circumsporozoite repeat region of *Plasmodium falciparum* coupled to hepatitis B surface antigen. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 45, 533–538.

Wharton, M. (2010). Vaccine safety: current systems and recent findings: *Curr. Opin. Pediatr.* 22, 88–93.

WHO, World Malaria Report 2012,
<http://www.who.int/malaria> (Zugriff 20.6.14)

<http://www.who.int/malaria/media/en/> (Zugriff 20.6.14)

WHO, Malaria, Fact sheet N°94, März 2014
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en> (Zugriff 15.6.14)

WHO, Intermittent preventive treatment in infants (ITPi)
http://www.who.int/malaria/areas/preventive_therapies/infants/en
(Zugriff 15.6.14)

WHO, Intermittent preventive treatment in pregnancy (ITPp)
http://www.who.int/malaria/areas/preventive_therapies/pregnancy/en
(Zugriff 16.6.14)

WHO Malaria World Report 2013
http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report/en/
(Zugriff 12.6.14)

9. Eigenanteil

Als Mitarbeiterin des Forschungsteam bin ich für die klinische Betreuung der Kinder dieser Studie zuständig gewesen. Dieses beinhaltete die Überwachung direkt nach der Impfung, Untersuchungen im akuten Krankheitsfall und Betreuung und Behandlung bei stationärer Aufnahme. Die Berichte über schwere unerwünschte Ereignisse wurden von mir verfasst. Bei der Datenerhebung und Datenverarbeitung bin ich mit beteiligt gewesen.

Ich habe Teile der statistischen Analyse der Daten in Zusammenarbeit mit Dr. med. B. Lell durchgeführt.

Ebenso habe ich bei den Veröffentlichungen der Daten dieser Studie (Lell et al., 2009) (Agnandji et al., 2011) mitgewirkt.

10. Publikationshinweis

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits in folgender Publikation veröffentlicht:

Lell, B., Agnandji, S., von Glasenapp, I., Haertle, S., Oyakhiromen, S., Issifou, S., Vekemans, J., Leach, A., Lievens, M., Dubois, M.-C., et al. (2009). A randomized trial assessing the safety and immunogenicity of AS01 and AS02 adjuvanted RTS,S malaria vaccine candidates in children in Gabon. *PloS One* 4, e7611.