

# Rapport d'activités 2015



Recherche



Formation



Santé publique



Institut Pasteur  
de Madagascar

# Rapport d'activités 2015

« La science n'a pas de patrie, parce que le savoir est le patrimoine de l'humanité, le flambeau qui éclaire le monde »

*Louis Pasteur.*



## Sommaire

Mots du Ministre de la Santé Publique

Mots des Directeurs

Laboratoires, unités et services

Activités de recherche

Activités de formation

Activités de diagnostic

## Mots du Ministre de la Santé Publique



**Pr. Lalatiana ANDRIAMANARIVO**

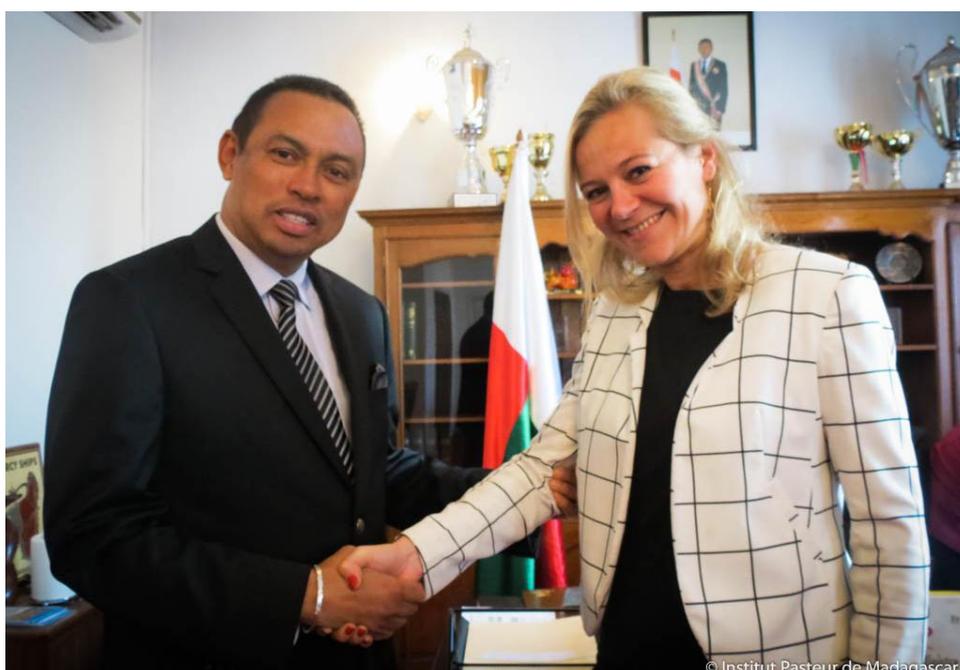
Ministre de la Santé Publique  
de Madagascar

Depuis 1961, l'Institut Pasteur de Madagascar est un partenaire du Ministère de la Santé Publique à Madagascar, un véritable allié pour mener les études et les recherches nécessaires dans le domaine de la santé publique et du développement économique de Madagascar.

Durant l'année 2015, les interventions et conseils techniques de l'IPM ont accompagné le Ministère de la Santé Publique dans la mise en place de mesures adéquates face aux priorités de santé nationale telles que la peste, le paludisme ou encore la poliomyélite. A titre d'exemple, après une suspension de la surveillance de la peste dans la capitale en 2006, la relance a pu se faire en avril 2015 avec l'appui de l'IPM. En collaboration avec le Ministère de la Santé Publique, un travail de renforcement du réseau de surveillance sentinelle des fièvres a également été entamé avec l'IPM afin de développer un système de détection

précoce et de prédiction des épidémies de paludisme à Madagascar. Enfin, la mise en place d'un système de collecte de données de manière quotidienne a permis une surveillance en temps réel des épidémies au niveau national.

Cela nous amène à exprimer de nouveau notre confiance à l'IPM en tant que conseiller dans la stratégie nationale pour la santé publique, mais également en tant que partenaire dans la mise en oeuvre de ses activités au profit de la population malagasy.



© Institut Pasteur de Madagascar

## Mots des Directeurs



**Mathilde de CALAN**  
Directrice par interim

Nous sommes désormais plus de 500 personnes à l'IPM. Une belle équipe qui, par son dynamisme et son engagement, contribue à l'amélioration de la santé de la population malagasy, au développement économique du pays, et à son rayonnement international.

Nos actions s'articulent autour de trois piliers : la recherche, la formation et la santé publique.

Nos travaux de recherche sont alignés sur les priorités nationales, et répondent aux défis de la santé internationale : si la lutte contre les maladies infectieuses reste le focus principal de l'IPM, nos équipes travaillent également à la recherche de nouveaux moyens de prévention ou de traitement des maladies chroniques. En 2015, 30 nouveaux projets ont été initiés.

En lien direct avec nos activités de recherche, les actions menées dans le secteur de la santé publique, en partenariat constant avec le Ministère de la Santé publique de Madagascar, visent à développer la surveillance, à assurer des diagnostics de qualité (l'IPM héberge 9 laboratoires de référence nationaux ou internationaux) ou encore à intervenir dans la riposte épidémique. En outre, le Centre de Biologie Clinique (CBC), le Centre International de Vaccination (CIV) et le Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement (LHAE) mènent des activités au service direct de la population et des entreprises du pays. Enfin, dans la tradition pasteurienne, l'IPM fournit gratuitement à l'échelle nationale, vaccins et traitements antibiologiques.

Depuis maintenant plus d'un siècle, l'IPM est engagé dans la formation de chercheurs, en accueillant chaque année près de 250 étudiants et stagiaires. Les cours de niveau international, les possibilités de bourses ou encore la formation continue contribuent au développement d'une expertise nationale de très haut niveau. Expertise régulièrement partagée auprès de nos partenaires scientifiques, académiques et économiques de Madagascar.

Notre vision est de conjuguer nos compétences avec les besoins du développement. C'est pourquoi l'IPM s'est engagé depuis 2015 dans une démarche de rencontre de nouveaux partenaires, notamment du secteur privé pour développer de futures collaborations. Cette démarche s'est traduite par la mise en place de la Cellule Communication pour faire connaître nos activités et nos missions.



**Dr Voahangy RASOLOFO**  
Directrice Scientifique

Face à l'évolution des activités, il est devenu indispensable à la Direction de l'IPM de mettre en place une structure qui l'aide à gérer sa politique scientifique afin de répondre aux priorités et aux besoins nationaux. D'où la création, en 2015, de la Direction Scientifique de l'IPM. Celle-ci s'appuie sur un comité scientifique, dont les missions sont l'orientation stratégique de l'IPM et la programmation scientifique, l'évaluation et la formation scientifique des étudiants et des chercheurs, la valorisation scientifique des travaux réalisés ainsi que les relations scientifiques avec les partenaires extérieurs. En termes de production scientifique, 48 articles ont été publiés en 2015 dans des revues internationales. Par ailleurs, 13 communications affichées et 26 communications orales ont été présentées par les chercheurs de l'IPM au cours de manifestations scientifiques internationales. Un des faits marquants de l'année 2015 a également été l'organisation d'un cours international où 16 apprenants malgaches et internationaux ont pu bénéficier d'une formation sur les techniques de l'immunologie. En 2016, la Direction Scientifique s'est donnée comme mission de recadrer la vision globale de l'IPM afin de mieux redéfinir ses priorités et ses orientations stratégiques. Ses principaux objectifs sont de développer de grands projets transversaux de recherche et de santé publique qui lui permettront, d'une part, de renforcer les compétences de l'IPM, et d'autre part, de répondre au mieux aux besoins du pays, aussi bien au niveau santé qu'au niveau économique.



**Philippe LASNIER**

**Directeur Administratif et Financier**

La Direction Administrative et Financière (DAF) exerce son activité non seulement dans les domaines de la finance et la comptabilité générale et analytique, mais également dans les domaines de l'audit, de la gestion des ressources humaines, des achats et des approvisionnements, de la maintenance des équipements et de l'infrastructure, ainsi que de l'animation des services techniques et généraux. Elle assure à l'Institut et à l'ensemble des laboratoires, des unités de recherche et de service, les prestations et le soutien nécessaires dont ils ont besoin pour mener à bien leurs missions respectives.

Afin de faire face à l'accroissement de l'activité et des ressources humaines, le renforcement des capacités d'appui a été particulièrement marqué durant l'année 2015 notamment par la mise en place des nouvelles applications de gestion telles que Sage Comptabilité,

Sage Gestion Commerciale, Sage Paie et Sage RH. Dans le but de consolider la maîtrise de la gestion financière et répondre aux nouveaux besoins de contrôle, deux cellules ont été créées : la Cellule Audit et Contrôle Interne (CACI) et la Cellule Audit et Contrôle Projets (CACP). De même, le contrôle budgétaire a été structuré par le déploiement de l'application Soft- Budget permettant le suivi des budgets et des dépenses engagées par postes analytiques et lignes budgétaires et par la création de la cellule de suivi de l'exécution budgétaire. Il y a également eu la révision complète des procédures financières de suivi de projets et des procédures de gestion des caisses d'avance. Afin de limiter la collaboration avec le secteur informel, nous avons augmenté sensiblement la formalisation d'appels d'offre et les contractualisations avec les fournisseurs. Enfin, le réseau électrique a fait l'objet de gros travaux de mise en conformité afin d'assurer à l'IPM une distribution énergétique en adéquation avec les nouveaux besoins.

## Laboratoires, unités et services

---

Centre de Biologie Clinique .....	2
Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement .....	5
Service Médical.....	9
Unité de Bactériologie Expérimentale.....	11
Unité d'Entomologie Médicale.....	14
Unité d'Epidémiologie .....	18
Unité des Helminthiases.....	25
Unité d'Immunologie des Maladies Infectieuses .....	28
Unité des Mycobactéries.....	32
Unité de Recherche sur le Paludisme.....	36
Unité de Recherche sur la Peste.....	38
Unité de Virologie.....	41
Groupe G4 Malaria .....	45
Service Qualité.....	47

---

# Centre de Biologie Clinique

Le Centre de Biologie Clinique (CBC) remplit les missions d'un Laboratoire d'Analyses Biomédicales polyvalent au service du public en lui offrant le plus large éventail possible d'analyses médicales réalisées dans les meilleures conditions de rapidité, de coût et de fiabilité, sous démarche qualité, incluant des contrôles externes réguliers. Dans ce cadre, le CBC est un observatoire biologique dont les résultats peuvent servir à adapter les politiques nationales de traitement de certaines affections. Il a aussi pour mission de soutenir sur le plan biologique et en particulier microbiologique, les activités de recherche des autres unités de l'IPM. Le CBC a enfin une mission de formation, que ce soit dans le cadre du stage validant obligatoire des internes en biologie médicale ou dans celui de la formation de techniciens. Le CBC forme avec le Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement le centre national de référence des salmonelles, des shigelles et de *vibrio cholerae*.

Le plateau technique du CBC est divisé en 5 secteurs : hématologie, bactériologie, immuno-sérologie, biochimie et anatomo-cytopathologie (laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques, LACP). Le panel des analyses réalisées est présenté dans le catalogue du laboratoire qui est en ligne (<http://www.pasteur.mg/>). Un manuel de prélèvement et catalogue des analyses avec toutes les recommandations relatives à l'étape pré-analytique des analyses est aussi disponible en ligne et au laboratoire.

## I. Activités

Les activités de diagnostic du CBC sont présentées dans les fiches CBC et LACP.

Le CBC travaille en collaboration avec les autres unités de recherche de l'Institut. En 2015, les activités de recherche du laboratoire portaient sur :

- **BIRDY** dont l'objectif principal de l'étude est d'estimer l'incidence des infections bactériennes résistantes aux antibiotiques : infection néonatale (<28 jours de vie), infections du nourrisson et de l'enfant (28 jours à < 2ans).
- **ENISM 2015 : Enquête nationale sur l'Iode et le Sel à Madagascar.** Collecte des données sur terrain : 25 novembre 2014 – 21 janvier 2015
- **Complications des avortements provoqués à Madagascar** par l'évaluation de l'incidence et des déterminants des infections post-abortives en milieu hospitalier à Antananarivo ;

L'année 2015 a été marquée par l'ouverture 7 jours/7 du laboratoire.

## II. Personnel du service



© Institut Pasteur de Madagascar

### *Cadres scientifiques*

- **Frédérique Randrianirina**, MD, Responsable du service
- **Elisoa Hariniaina Ratsima**, MD, adjointe au chef de service
- **Lovasoa Ramparany**, MD, adjointe au chef de service
- **Clairette Raharisoa Vololonantenaina**, MD, adjointe, responsable du LACP

### *Personnel permanent*

- Cadres médico-techniques 3
- Surveillante 1
- Responsable qualité 2
- Correspondant qualité 1
- Techniciens de laboratoire 22 + 3 (LACP)
- Secrétaires 09 + 1 (LACP)
- Secrétaires préleveurs 10
- Aides techniciens 5
- Agents de laboratoire 2

### *Stagiaires*

- Internat qualifiant 5
- Thésard en pharmacie 1
- Autres stagiaires 14

### III. Productions scientifiques

#### III.1. Publications

- Chereau F, Herindrainy P, Garin B, Huynh BT, Randrianirina F, Padget M, Piola P, Guillemot D, Delarocque-Astagneau E. Colonization of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase- and NDM-1-producing Enterobacteriaceae among pregnant women in the community in a low-income country: a potential reservoir for transmission of multiresistant Enterobacteriaceae to neonates. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(6):3652-5.

### IV. Activités de formation, d'enseignement ou d'expertise

Formation pratiques et théoriques des internes en biologie médicales et élèves techniciens de laboratoire et de l'ISPM.

# Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement

Le Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement (LHAE) est un laboratoire dont les activités de diagnostic sont axées sur la surveillance des risques sanitaires liés à l'alimentation, aux eaux et à l'environnement. Il est centre national de référence des salmonelles, des shigelles et de *vibrio cholerae*, conjointement avec le Centre de Biologie Clinique de l'Institut Pasteur de Madagascar.

Accrédité COFRAC sur la microbiologie des eaux et des aliments (portée disponible sur [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr)), il permet notamment, le contrôle microbiologique pour l'exportation des produits agro-alimentaires malagasy, et contribue ainsi au développement économique et social du pays.

Reconnu par le Ministère de la Pêche et le Ministère de l'Elevage, il est le laboratoire officiel pour le contrôle bactériologique à l'export des produits halieutiques et assure le plan national de surveillance des vibrions sur les produits de la mer.

Il collabore avec les professionnels de l'agro-alimentaire pour un renforcement des capacités analytiques au plan national, notamment par des formations organisées auprès des laboratoires d'autocontrôles. Il continue à développer une expertise locale dans le domaine de la sécurité sanitaire des eaux et des aliments. Il participe ainsi à la surveillance et au contrôle des principales maladies entériques infectieuses liées à l'alimentation.

## I. Activités

- **La sécurité alimentaire** : prélèvements, analyses microbiologiques et mycotoxines, accompagnement - conseils auprès des entreprises, audits bonnes pratiques d'hygiène, audits HACCP ("Hazard Analysis Critical Control Point", *i.e.* Analyse des dangers - points critiques pour leur maîtrise), audits ISO 22000. Cela concerne les industries agro-alimentaires, les artisans, les producteurs agricoles, les métiers de bouche (restaurateurs, pâtisseries, bouchers, traiteurs...), les métiers de distribution.
- **La sécurité sanitaire de l'eau** : prélèvements, analyses microbiologiques et chimiques des eaux de consommation, des eaux de rejets, des eaux superficielles, des eaux chaudes sanitaires (*Legionella pneumophila*) et des eaux techniques. Cela concerne les distributeurs d'eau, les établissements hôteliers, les industriels, les particuliers et tout projet ayant un impact sur l'environnement.
- **La formation aux professionnels** : techniques d'analyses microbiologiques de base et bonnes pratiques de laboratoire, pratique de l'assurance qualité en laboratoire; sécurité alimentaire, *i.e.* bonnes pratiques d'hygiène et HACCP. Cela concerne le personnel des entreprises en relation avec l'agroalimentaire (production ou vente), le personnel de laboratoire et les responsables production ou qualité.

## II. Faits marquants de l'année

L'année 2015 a été marquée par les faits suivants :

- **Novembre :**
  - Participation au « Seafood quality Workshop », SmartFish (programme visant à améliorer les capacités pour l'exploitation durable des ressources halieutiques) and Indian Ocean Commission, Seychelles.
  - Audit extension COFRAC (portée disponible sur [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr)), en LABGTA 59 relatif à la microbiologie des aliments.
- **Octobre :** Participation à l'atelier constitutif du Comité National des mesures Sanitaires et PhytoSanitaires (CNSPS) et directives pour l'harmonisation des opérations du CNSPS à travers tous les pays membres de l'Union Africaine, Antananarivo.
- **Septembre :** Formation régionale pour l'élaboration de plans de développement de laboratoire, compte tenu du rôle joué par les laboratoires dans le système national de sécurité sanitaire des aliments, EDES-COLEACP, Sénégal. (Programme d'appui à la mise en œuvre et au renforcement du système de sécurité sanitaire des produits alimentaires et agro-alimentaires pour les pays ACP (Afrique-Caraïbes-Pacifique).
- **Août à décembre :** Réalisation de la phase 2 de la campagne d'analyse sur site, qualité des eaux de puits, programme de Santé Mahefa, USAID.
- **Juillet :** Réorganisation de la Plate-forme d'Epidémiologie-surveillance et de Santé animale (PES) au sein du laboratoire.
- **Mai :** Participation au 10<sup>ème</sup> salon de la FIM (Foire Internationale de Madagascar), évènement économique multisectoriel, représentant 300 exposants et mettant en exergue notamment le secteur agro-alimentaire, Tanjombato.
- **Avril :**
  - Mission d'audit des laboratoires présélectionnés pour la mise en place du dosage des pesticides, aflatoxines et métaux dans les produits alimentaires, EDES - COLEACP.
  - Le LHAE éligible aux Fonds pour le renforcement des capacités analytiques du territoire via le PROCOM, Programme d'Appui à l'Emploi et à l'Intégration Régionale, financé par le Fonds Européen de Développement (FED) pour les pays ACP.
- **Mars :** Participation à l'atelier de mise en réseau des capacités d'analyses des eaux sur l'Océan Indien (Mayotte, La Réunion, Les Comores, Madagascar), Antananarivo.
- **Février :** Participation au lancement du projet "Strengthening controls of food safety threats, plant and animal pests and diseases for agricultural productivity and trade in Southern Africa", visant à maîtriser les problèmes liés à la sécurité sanitaire des aliments, aux maladies des plantes et des animaux pour renforcer la sécurité alimentaire et les échanges commerciaux dans la région, Africa Solidarity Trust Fund, FAO, Antananarivo.

### III. Personnel du laboratoire



© Institut Pasteur de Madagascar

#### *Cadres scientifiques*

- **Alexandra Bastaraud-Célestin**, chef de service
- **Noro Ravaonindrina N**, MD, adjointe au chef de service, (jusqu'en août 2015)

#### *Personnel permanent*

- Responsables techniques 4
- Responsable qualité 1
- Conseiller clientèle 1
- Surveillant 1
- Techniciens 5
- Secrétaires 1
- Agents de production 4
- Agents de laboratoire 4

#### *Stagiaires*

- Master et plus 14
- Techniciens supérieurs 5

#### IV. Activités de formation, d'enseignement ou d'expertise

- Formations données : 7
  - Formation théorique et pratique en techniques microbiologiques de base pour l'analyse de l'eau (3).
  - Formation théorique et pratique en techniques microbiologiques de base pour l'analyse des aliments (3).
  - Formation sur les bonnes pratiques d'Hygiène en cuisine commerciale (1).
- Formations reçues : 3
  - Formation Auditeur -Qualité (3 auditeurs internes)
  - Master II, sciences de la santé, de l'environnement, du territoire et de la société, UVSQ/AUF
  - Formation régionale pour l'élaboration de plans de développement de laboratoire, EDES-COLEACP
- Appartenance/participation à des groupes ou comités d'experts nationaux :
  - Participation aux réunions du *Codex alimentarius* de Madagascar sur la création de la loi alimentaire malagasy et l'élaboration des projets de textes réglementaires régissant les produits alimentaires malagasy.
  - Membre du global foodborn infections network de l'OMS (GFN), impliqué dans la surveillance mondiale des infections d'origine alimentaire.
  - Membre du Comité National des mesures Sanitaires et PhytoSanitaires (CNSPS)

## Service Médical

Le Service Médical de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) assure les fonctions suivantes :

- **Centre International de Vaccination (CIV)** : centre de consultations en matière de vaccination qui assure les vaccinations recommandées à Madagascar et exigées pour les voyages internationaux. Il assure aussi la réalisation d'intradermoréaction (IDR) à la tuberculine. Il est enfin fournisseur, à Madagascar, de produits utilisés en allergologie.
- **Centre de Traitement Anti-Rabique (CTAR)**. Conformément à la convention de 1961 liant le Gouvernement de Madagascar et l'Institut Pasteur à Paris, le CTAR traite les personnes exposées à la rage et approvisionne en vaccin anti-rabique tous les centres de traitement anti-rabique de Madagascar, aux frais de l'IPM. Ce service est assuré à la population de Madagascar, sans interruption depuis 1901. Il assure aussi le lien avec les services du Ministère de la santé en charge de la lutte contre la rage.
- **Dispensaire**. Le dispensaire de l'IPM est ouvert gratuitement à son personnel et à ses ayants droits. Il propose un système de soins à tiers payant pour les prescriptions. Il sert aussi de support à la médecine du travail.

### I. Faits marquants de l'année

- Baisse des activités du CIV et ouverture d'une annexe à Ankorondrano. (fiche **CIV**)
- La célébration de la Journée Mondiale contre la Rage à 6 endroits : Analakely, Imerintsiatosika, Anjozorobe, Behenjy, Mahitsy et Antanimena. (fiche **CTAR**)

## II. Personnel du service



### *Cadres*

- Dr. Ravoniaina RAMIANDRASOA, Chef du Service Médical et du CIV, ravo@pasteur.mg
- Dr. William RAKOTOMALALA, CTAR & Dispensaire, malala@pasteur.mg
- Dr. Fara Marie Annie RANDRIANARIVONY, CTAR & Dispensaire, fmannie@pasteur.mg

*Sage-femme : 1 (CIV)*

## III. Programmes/types d'activité

- Centre International de Vaccination : fiche **CIV**
- Centre de Traitement Anti-Rabique : fiche **CTAR**
- Dispensaire : fiche **DISP**

## IV. Activités de formations, d'enseignements et d'expertise

- Formation reçue : MOOC Vaccinologie

# Unité de Bactériologie Expérimentale

L'Unité de Bactériologie Expérimentale mène des travaux de recherche sur les résistances des bactéries aux antibiotiques et leurs mécanismes, sur le diagnostic et l'épidémiologie moléculaire des bactéries isolées chez l'homme, l'animal et l'environnement, ainsi que sur des bactéries responsables de maladies négligées comme la mélioïdose. Elle met en œuvre des techniques de microbiologie classiques et moléculaires, et dispose d'un spectromètre de masse de type MALDI-TOF pour l'identification bactérienne.

## I. Activités

Les projets de recherche qu'elle a menés en 2015 portaient sur les thématiques suivantes :

### I.1. Résistances aux antibiotiques et virulence

- Etude de la dynamique de transmission des bactéries multi-résistantes (BMR) en néonatalogie : fiche **ChART**
- Projet BIRDY (children's antibiotic resistant infections in low income countries): fiche **BIRDY**
- Mise au point de tests de diagnostic rapide (LAMP) pour la détection des résistances aux antibiotiques : fiche **LAMPIK**
- Rôle du portage intestinal dans l'émergence globale des souches multi-résistantes et hypervirulentes de *Klebsiella pneumoniae* : fiche **Kpn**

### I.2. Maladies négligées

- Etude de la Mélioïdose : fiche **HMelioid**.

## II. Personnel de l'unité



**Cadre scientifique**

- **Jean-Marc COLLARD** : responsable du laboratoire

**Personnel permanent**

- Techniciens de laboratoire 3

**Equipe Birdy**

- Sites Tana et Moramanga 17

**Stagiaires**

- Thèses de Sciences 3

**III. Productions scientifiques****III.1. Publications**

- Chereau F, Herindrainy P, **Garin B**, Huynh BT, Randrianirina F, Padget M, Piola P, Guillemot D, Delarocque-Astagneau E. Colonization of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase- and NDM-1-producing Enterobacteriaceae among pregnant women in the community in a low-income country: a potential reservoir for transmission of multiresistant Enterobacteriaceae to neonates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(6):3652-5. IF: 4.476
- Diomandé FV, Djingarey MH, Daugla DM, Novak RT, Kristiansen PA, **Collard JM**, Gamougam K, Kandolo D, Mbakuliyemo N, Mayer L, Stuart J, Clark T, Tevi-Benissan C, Perea WA, Preziosi MP, Marc LaForce F, Caugant D, Messonnier N, Walker O, Greenwood B. Public Health Impact After the Introduction of PsA-TT: The First 4 Years. *Clin Infect Dis.* 2015 Nov 15;61 Suppl 5:S467-72. IF: 8.886 5-Yr IF 9.206
- Mattheus W, Hanquet G, **Collard JM**, Vanhoof R, Bertrand S. Changes in meningococcal strains in the era of a serogroup C vaccination campaign: Trends and evolution in Belgium during the period 1997-2012; *PLoS One*, 2015;10(10):e0139615. IF: 4.41
- Cornick JE, Chaguza C, Harris SR, Yalcin F, Senghore M, Kiran AM, Govindpershad S, Ousame S, Du Plessis M, Pluschke G, **Collard JM**, Antonio M, von Gottberg A, French N, Klugman KP, Heyderman RS, Bentley SD, Everett DB for the PAGE Consortium. Region-specific diversification of the highly virulent serotype 1 *Streptococcus pneumoniae*. *Microbial Genomics* 2015, 1(2) doi: 10.1099/mgen.0.000027.
- Abdelkader AS, Farbos AG, Hamidou AA, Vonaesch P, Jusot JF, Koeck JL, **Collard JM**. MLVA typing on *Streptococcus pneumoniae* serotype 1 isolated from meningitis cases in Niger before the introduction of PCV-13 revealed a low genetic diversity. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2015; 109(7):477-80. 5-year IF: 2.443
- **MenAfriCar consortium**. The diversity of meningococcal carriage across the African meningitis belt and the impact of vaccination with a group A meningococcal conjugate vaccine. *J Infect Dis.* 2015 Apr 9. pii: jiv211. IF: 5.778 5-year IF: 6.020
- Baltazar M, Ngandjio A, Holt KE, Le Pillet E, de la Gandara MP, **Collard JM**, Bercion R, Nzouankeu A, Le Hello S, Dougan G, Fonkua MC, Weill FX. Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhi lineages in the Gulf of Guinea. *Emerg Infect Dis.* 2015; 21(4):655-9. IF: 6.17



Spectromètre de masse de type MALDI-TOF (Microflex®) utilisé pour le diagnostic microbiologique et entomologique (sept. 2014)

#### IV. Activités de formation, d'enseignement et d'expertise

- Boyer S et **Collard JM**. Santé et climat: Problématique vue à travers l'expérience d'un entomologiste et d'un bactériologiste. Institut Français de Madagascar.
- **Collard JM**. Antibiotic resistance: The facts. 3<sup>ème</sup> Journées de la Veille Sanitaire dans l'océan Indien, 26 - 27 octobre 2015, Balaclava, Ile Maurice.
- **Collard JM**. Le rôle du laboratoire dans l'investigation des épidémies. 3<sup>ème</sup> Journées de la Veille Sanitaire dans l'océan Indien, 26 - 27 octobre 2015, Balaclava, Ile Maurice.

# Unité d'Entomologie Médicale

L'Unité d'Entomologie Médicale mène des activités de **Recherche** (fondamentale et opérationnelle), de **Santé Publique** (Protocole mis au point avec le Ministère de la Santé, intervention en cas d'épidémies, en particulier peste et paludisme) et de **Formation** (formation d'étudiants et de professionnels via des stages ou des cours spécialisés).

Ses activités de recherche portent sur l'identification des vecteurs potentiels impliqués dans la transmission du paludisme (historiquement et actuellement la majorité de l'activité), les vecteurs potentiels d'arbovirus et leurs suivis pour une meilleure compréhension des épidémies d'arboviroses (Fièvre de la Vallée du Rift - FVR, infections à virus West Nile), le rôle des puces dans les épidémies de peste, l'évaluation des risques de diffusion des maladies vectorielles et l'étude des interactions entre leurs différents acteurs (vecteurs, hommes, réservoirs et pathogènes) dans leur environnement pour mieux en comprendre l'épidémiologie. La mise en œuvre de ces activités se fait à travers des projets multidisciplinaires menés avec les différentes unités de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) (peste, paludisme, virologie et épidémiologie) et en collaboration avec des institutions de recherche ou de santé publique œuvrant au niveau national (Ministère de la Santé Publique, Ministère de l'élevage, Universités, Associations), régional (CRVOI) et international (Réseau International des Instituts Pasteur, IRD, CIRAD, OMS, USAID, RTI).

En collaboration avec le Ministère de la Santé Publique et différentes unités de l'IPM, l'unité est également impliquée dans la surveillance des vecteurs d'arboviroses (FVR et infections à virus Chikungunya), du paludisme et de la peste, et dans l'évaluation de la sensibilité/résistance des vecteurs aux insecticides utilisés dans les programmes de lutte.

Les différents sites d'études et la plateforme du laboratoire d'entomologie médicale offrent de nombreuses possibilités pour la formation de jeunes chercheurs, d'étudiants et de techniciens.

## I. Activités

En 2015, les activités de recherche de l'unité portaient sur :

- **Fiche Entomo-FleaPop** : Structure génétique des populations de *Xenopsylla cheopis* à Madagascar et à Mayotte
- **Fiche Entomo-Eval-Cases** : Évaluation d'un nouveau produit insecticide, le chlorfenapyr, dans les cases pièges
- **Fiche Entomo-Rift** : Étude en laboratoire de la compétence vectorielle pour le virus de la fièvre de la vallée du Rift et de la biologie de *Culex antennatus*, *Anopheles squamosus* et *Anopheles coustani* (*Culicidae*) de Madagascar
- **Fiche Entomo-Maldi** : Mise en place de MALDI-TOF, outil d'identification en Entomologie Médicale
- **Fiche Entomo-Phylo-Flea** : Diversité d'espèces et analyses phylogénétiques des puces de forêts dans les Hauts-Plateaux de Madagascar

## II. Personnel de l'Unité



### *Cadres scientifiques*

- Sébastien BOYER, chef d'unité, PhD, HDR
- Fara Nantenaina Raharimalala, Adjointe en Chef, PhD
- Ousmane NDIATH, chercheur, PhD

### *Post-doc, Stagiaire de recherche PSRL*

- Mireille Harimalala,
- Fano José Randrianambinintsoa
- Michael Luciano Tantely,

### *Personnel permanent*

- Techniciens 4
- Aide-techniciens 2
- Surveillant 1
- Project manager 1
- Secrétaire 1

### *Stagiaires*

- Techniciens 12
- Thèse de sciences 3
- Master 2 2

### III. Productions scientifiques

#### III.1. Publications

Liste des publications de l'année (au format de Vancouver, avec tous les auteurs cités)

- **Nepomichene TNJJ, Elissa N, Cardinale E, Boyer S.** Species diversity, abundance and host preferences of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in two different ecotypes of Madagascar with recent RVFV transmission. *Journal of Medical Entomology* 2015. 52(2):962-969.
- **Tantely ML, Boyer S, Fontenille D.** A review of mosquitoes associated with Rift Valley fever virus in Madagascar. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2015. 92(4):722-729.
- **Andriamandimby SF, Viarouge C, Ravalohery JP, Reynes JM, Sailleau C, Tantely ML, Elissa N, Cardinale E, Sall AA, Zientara S, Heraud JM.** Detection in and circulation of Bluetongue virus among domestic ruminants in Madagascar. *Veterinary Microbiology* 2015. 176 : 268-273.
- Depaquit J, Léger N, **Randrianambinintsoa FJ.** Paraphyly of the subgenus *Anopheles* and creation of *Madanopheles* subg. nov. *Medical and Veterinary Entomology* 2015. 29(2): 159-170.
- Gouagna LC, Dehecq JS, Fontenille D, Dumont Y, **Boyer S.** Seasonal variation in size estimates of *Aedes albopictus* population based on standard mark–release–recapture experiments in an urban area on Reunion Island. *Acta tropica* 2015. 143: 89-96.
- Jacquet M, Tilquin M, Ravanel P, **Boyer S.** Increase in tolerance of *Aedes aegypti* larvae (Diptera: Culicidae) to the insecticide temephos after exposure to atrazine. *African Entomology* 2015. 23(1):110-119.
- Guyant P, Corbel V, Guérin PJ, Lautissier A, Nosten F, **Boyer S, Coosemans M, Dondorp AM, Sinou V, Yeung S, White N.** Past and new challenges for malaria control and elimination: the role of operational research for innovation in designing interventions. *Malaria Journal* 2015. 14:279.
- **Randriamaherijaona S, Rogier C, Boyer S, Bouraima A, N'Guessan R, Briët O, Corbel V.** Do holes in long lasting insecticidal nets compromise their efficacy against pyrethroid resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus*? Results from a study releasing mosquitoes in experimental huts. *Malaria Journal* 2015. 14: 332.
- **Nepomichene TNJJ, Tata E, Boyer S.** Malaria case in Madagascar, probable implication of a new vector, *Anopheles coustani*. *Malaria journal* 2015. 14: 475.
- **Raharimalala FN, Boukraa S, Bawin T, Boyer S, Francis F.** Molecular detection of six (endo-) symbiotic bacteria in Belgian mosquitoes: first step towards the selection of appropriate paratransgenesis candidates. *Parasitology research* 2015. 115: 1-9.
- Boukraa S., De la Grandière M. A., Bawin T., **Raharimalala F. N.,** Zimmer J.-Y., Haubruge E., Thiry E., Francis, F. Diversity and ecology survey of mosquitoes potential vectors in Belgian equestrian farms: a threat prevention of mosquito-borne equine arboviruses. *Preventive Veterinary Medicine.* 2015. 124: 58-68.
- **Randriamaherijaona S, Briët OJT, Boyer S, Bouraima A, N'Guessan R, Rogier C, et al.** Do holes in long-lasting insecticidal nets compromise their efficacy against pyrethroid resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus*? Results from a release–recapture study in experimental huts. *Malaria Journal.* 2015 332;14.

#### III.2. Communications orales

- Endémie de peste à Madagascar: sensibilité actuelle de la puce *Xenopsylla cheopis* (Siphonaptera, Pulicidae) aux insecticides. **A. Miarinjara, E. Tata, M. Rajaonarimanana, T. Ramihangihajason, S. Boyer.** Journées de la Veille sanitaire dans l'océan Indien. 26-27 octobre 2015, Maurice.

### III.3. Communications affichées

- Hedje J, **Randriamaherijaona S**, Sebastien Boyer, Annett Cotte, Sixte Zigirumugabe, Mike Green, Ray Beach. Quantifying LLIN bioefficacy: Can colorimetric fast test (CFT) results serve as a proxy for the WHO cone bioassay? 64th Annual Meeting, Philadelphia, Pennsylvania, USA, 25 – 29 octobre 2015.
- Kesteman T, **Randriamaherijaona S**, Rogier C, Boyer S. Save mosquitoes, save money! A resampling analysis to determine how many mosquitoes are needed to test a LLIN. 64th Annual Meeting, Philadelphia, Pennsylvania, USA, 25 – 29 octobre 2015.
- M. Harimalala, H. Delatte, S. Telfer, A. Miarinjara, T. Ramihangihajason and S. Boyer. Genetic structure of *Xenopsylla cheopis*, the flea vector of plague in Madagascar. International Scientific Symposium of the Institut Pasteur International Network, Paris, October 14<sup>th</sup>-16<sup>th</sup>, 2015.

### III.4. Principales implications dans des institutions nationales ou internationales

- Maurice : Journées de la Veille sanitaire dans l'océan Indien
- Madagascar : Atelier national sur la lutte contre la peste à Madagascar

# Unité d'Epidémiologie

L'Unité d'Epidémiologie mène des activités de recherche, de santé publique et de formation. Ses activités de recherche s'appuient sur la conduite d'études cliniques, sur la rédaction de protocoles d'étude jusqu'à l'analyse des données et la publication des résultats, sur des modélisations spatio-temporelles utilisant des Systèmes d'Information Géographique (SIG) appliqués à la santé, et sur la surveillance démographique au sein d'un observatoire en population dans le district de Moramanga. Ses activités de santé publique comprennent la surveillance épidémiologique avec notamment l'animation du réseau sentinelle de surveillance des maladies à potentiel épidémique et la participation à des investigations d'épidémies.

En termes d'activités de formation, l'unité accueille des internes de santé publique de l'Université d'Antananarivo, des stagiaires malgaches et étrangers dans le cadre de Masters, de travaux de thèses d'exercices et de thèses d'université. L'unité organise des formations sur les bonnes pratiques cliniques (BPC), en statistiques appliquées (Stata et R) et participe également aux ateliers organisés à l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM). Depuis 2011, l'Unité d'Epidémiologie est un des sites d'accueil des stagiaires FETP (« field an epidemiological training program ») formés dans l'Océan Indien. L'unité participe à des enseignements magistraux de l'Université d'Antananarivo (par exemple : SIG et télédétection) et à l'Institut Pasteur à Paris (essais cliniques).

## I. Activités

En 2015, les activités de recherche de l'unité portaient sur :

- Réseau sentinelle des fièvres à Madagascar et son évaluation: fiches **SENTFI et EVASENTFI**.
- Malnutrition chronique et aigüe à Madagascar (prévalence, causes et interventions) : fiche **MALNUT**
- Système de suivi démographique et sanitaire à Moramanga (Madagascar) : fiche **SSDS**.
- Economie de Santé sur PEV et prise en charge Pneumonie communautaire : fiches **i-CCM**
- L'hypertension artérielle à Moramanga : dépistage, risques et observance des traitements : fiche **HTA**
- Prédiction des épidémies de paludisme par serveur cartographique : fiche **MOPPRAM, MALPRED et MHEALTH**
- Etude SIG sur les zones prioritaires pour l'aspersion intra-domiciliaire (paludisme): fiche **GISVEC**
- Principaux pathogènes associés à la fièvre : fiche **ETIOFEB**
- Enquête Nationale sur l'Iode et le Sel à Madagascar : fiche **ENISM**
- Complications des avortements provoqués à Madagascar : **CAPM**
- Prévalence et physiopathologie de l'entéropathie environnementale pédiatrique en Afrique Sub-Saharienne : fiche **AFRIBIOTA**
- Développement d'un outil d'aide au diagnostic associé à un kit POC dans le cadre de la prise en charge des patients consultants pour accès fébrile dans un centre de santé de base à Moramanga : étude pilote : **CLINPOC**

- Comparaison entre la recherche active des cas de paludisme et l'administration de masse de médicaments autour d'un cas index de paludisme pour informer le programme national de lutte contre le paludisme sur la meilleure stratégie d'élimination du paludisme : Essai randomisé par grappes dans 13 districts des hautes terres centrales de Madagascar : **HTC**

## II. Faits marquants de l'année

- La réalisation de nombreux projets financés par l'USAID, en collaboration avec le CDC. Ce groupe de projets comprend 17 sous projets qui s'étalent sur 5 ans (jusqu'en 2018). Les thématiques principales sont la surveillance épidémiologique, les étiologies des fièvres, la malnutrition, la santé materno-infantile, le paludisme et l'entomologie médicale.
- De nombreux projets sur la thématique malnutrition ont été développés ou réalisés.
- L'expansion considérable de la cellule réalisatrice de projets (CRP) qui a permis de réaliser des projets communs avec d'autres unités de l'IPM ainsi qu'avec des partenaires extérieurs (UNICEF, CDC, BAD). A terme, le volume d'activité de cette cellule créée en 2013 et les métiers qui la caractérisent justifient la création d'une unité indépendante de l'Unité d'Epidémiologie.
- Au total environ 100 personnes ont été employées ou en stage dans l'Unité d'Epidémiologie en 2015.

### III. Personnel de l'unité



**Cadres scientifiques**

- **Piola Patrice**, MD, PhD, Responsable de l'unité
- **Rindra Vatosoa Randremanana**, MD, PhD, adjointe de l'Unité
- **Fanjasoa Rakotomanana**, MD, PhD, adjointe, cellule Système d'Information Géographique.
- **Aina Harimanana**, MD, PhD, Responsable Cellule Réalisatrice de Projet

**Médecins/ Agents de santé/ Experts**

- Médecin d'Etudes cliniques 9
- Médecin Animatrice des sites sentinelles 1
- Agents de santé 4
- Médecin - Assistante de coordination 1
- Médecin - Assistante de Rech. Clinique 1
- Médecin Projet Afribiota expat 1
- Infirmières enquêtrices Charli 3
- Vétérinaire Modélisateur expat 1
- Vétérinaire Chercheur expat 1
- Expert Essais Cliniques expat 1

**Equipe administrative**

- Project Manager 2
- Assistantes Administratives 2
- Assistant Administratif 1
- Responsable Site Moramanga 1

**Chauffeurs/ Agents de surface**

- Chauffeur Bajaj Charli 1
- Agent de surface Site Moramanga 1
- Gardien Site Moramanga 1
- Chauffeur Moramanga 1

**Enquêteurs/ Superviseurs**

- Enquêteurs Charli 5
- Superviseur Charli 1
- Enquêteurs 2
- Enquêteurs CAPM Quali 4
- Enquêteurs CAPM Quanti 10
- Superviseurs CAPM Quanti 2

**Stagiaires**

- Thésards 7
- Stagiaires expatriés 2
- Stagiaire – Peace corps 1

**Autres personnels**

- Coordinateur Socio-Anthropologie 1
- Coordinatrice de terrain CAPM Quali 1
- Assistant de recherche CAPM Quali 1
- Modélisateur 1
- Biostatisticien 1
- Technicien SIG 1
- Ingénieur Télédétection 1
- Nutritionniste 1
- Data Managers (Data M DDHS inclus) 6
- Contrôleur de saisie Charli 1

## IV. Productions scientifiques

### IV.1. Publications

- **Ratovoson R**, Rasetarinera OR, Andrianantenaina I, Rogier C, **Piola P**, Pacaud P (2015). Hypertension, a Neglected Disease in Rural and Urban Areas in Moramanga, Madagascar. PLoS ONE 10(9): e0137408. doi:10.1371/journal.pone.0137408
- Rakotosamimanana N, Richard V, **Raharimanga V**, Gicquel B, Mark Doherty T, Zumla A, Rasolofo Razanamparany V. Biomarkers for risk of developing active tuberculosis in contacts of TB patients: a prospective cohort study. Eur Respir J. 2015; 46(4) :1095-103. (supprimer : August 6, 2015 ERJ-00263-2015 (doi:10.1183/13993003.00263-2015).
- Ranaivomanana P, Raharimanga V, Dubois PM, Richard V, Rasolofo Razanamparany V. Study of the BCG Vaccine-Induced Cellular Immune Response in Schoolchildren in Antananarivo, Madagascar. PLoS ONE 2015; 10(7):e0127590. (doi: 10.1371/journal.pone.0127590).
- Randrianasolo BS, Jourdan PM, **Ravoniarimbinina P**, **Ramarokoto CE**, **Rakotomanana F**, **Ravaoalimalala VE**, Gundersen SG, Feldmeier H, Vennervald BJ, van Lieshout L, Roald B, Leutscher P, Kjetland EF. Gynecological manifestations, histopathological findings, and schistosoma-specific polymerase chain reaction results among women with Schistosoma haematobium infection: a cross-sectional study in Madagascar. J Infect Dis. 2015 Jul 15;212(2):275-84. doi: 10.1093/infdis/jiv035. Epub 2015 Feb 28. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25725656>
- Chereau F\*, **Herindrainy P\***, Garin B, Huynh BT, Randrianirina F, Padget M, et al. ESBL- and NDM-1-Producing Enterobacteriaceae Colonization Among Pregnant Women in the Community in a Low Income Country: a Potential Reservoir for Transmission of Multi-Resistant Enterobacteriaceae to Neonates. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2015 Apr 6. (\*Co-premier auteurs)
- Huynh BT, Padget M, Garin B, **Herindrainy P**, Kermorvant-Duchemin E, Watier L, Guillemot D, Delarocque-Astagneau E. Burden of bacterial resistance among neonatal infections in low income countries: how convincing is the epidemiological evidence? BMC infectious diseases. 2015;15(1):127.
- Richard V, Riehm JM, **Herindrainy P**, Soanandrasana R, Ratsitoharina M, **Rakotomanana F**, Andrianalimanana S, Scholz H, C. Rajerison M. Pneumonic plague outbreak, Northern Madagascar, 2011. Emerg Infect Dis. 2015 Jan;21(1):8-15.
- Alonso WJ, Guillebaud J, Viboud C, Razanajatovo NH, Orelle A, Zhou SZ, **Randrianasolo L**, Heraud JM. Influenza seasonality in Madagascar: the mysterious African free-runner. Influenza Other Respir Viruses. 2015 May;9(3):101-9.

### IV.2. Communications orales

- Bodo S. Randrianasolo, Peter M. Jourdan, Pascaline Ravoniarimbinina, **Charles E. Ramarokoto**, **Fanjaso Rakotomanana**, Vololomboahangy E. Ravaoalimalala, Svein G. Gundersen, Hermann Feldmeier, Birgitte J. Vennervald, Lisette van Lieshout, Borghild Roald, Peter Leutscher, Alan Fenwick, Eyrun F. Kjetland. Targeting the burden of schistosomiasis in Madagascar: Gynaecological manifestations of schistosomiasis in an area scaling up mass drug administration of praziquantel. 64<sup>e</sup> meeting Annual ASTMH. Octobre 2015. Philadelphie. Pennsylvanie. Etats Unis d'Amérique.
- **Randremanana RV**, Rogier C. Expérience sur la formation à la statistique dans un institut de recherche à Madagascar. *IV<sup>e</sup> Colloque International sur l'Enseignement de la Statistique*, 21-23 janvier 2015, Bordeaux, France.

- **L Randrianasolo.** Assurance qualité du Test de Diagnostic Rapide du paludisme utilisé dans les centres de surveillance sentinelle des fièvres à Madagascar. 3ème Journées de la Veille Sanitaire dans l'Océan Indien, Ile Maurice, Octobre 2015.
- Rakotoarison HA, **Piola P**, **Rakotomanana F**. La Télédétection et le Système d'Information Géographique, un outil d'aide à la décision dans la lutte contre le paludisme à Madagascar. XIIIème Journées scientifiques du Réseau de télédétection, Dakar, 17 au 19 février 2015. Financement USAID, IPM.
- **Ihantamalala FA**, **Ratovoson R**, **Mangahasimbola R**, **Rakotomanana F**. Modélisation de l'accessibilité aux soins des Centres de Santé de Base publique, Moramanga, Madagascar. XIIIème Journées scientifiques du Réseau de télédétection, Dakar, 17 au 19 février 2015.
- **Rakotomanana F**, **Rakotoarison H A**, **Ihantamalala F A**, Rasolofo V, **Randremanana R V**, **Piola P**. Case studies of GIS in public Health in Madagascar: benefits and limits, GEOMED, Florence, Italy, 10 au 12 septembre 2015.
- **Rakotomanana F**. Panorama of activities linked to vector-borne diseases. Atelier "Malaria and Space", Pretoria, Afrique du Sud, 29-30 juin 2015.
- **Girond F**. Development of a web based Malaria Early Warning System using mobile health". Atelier "Malaria and Space", Pretoria, Afrique du Sud, 29-30 juin 2015.
- Randrianasolo B, Rasoamanamihaja CF, Jourdan PM, Ravoniarimbina P, **Ramarokoto CE**, **Rakotomanana F**, Ravaoalimalala VE, Gundersen SG, Feldmeier H, Vennervald BJ, Lieshout L van, Roald B, Leutscher PD, Kjetland EF, Fenwick A Targeting the burden of schistosomiasis in Madagascar: Gynaecological manifestations of schistosomiasis in an area scaling up mass drug administration (MDA) of praziquantel, 64è rencontre internationale de l'American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH), Philadelphia, USA, 25 au 29 Octobre 2015.
- Olive MM, Heraud JM, Grosbois V, Andriamandimby SF, Tran A, **Rakotomanana F**, Rogier C, Chevalier V. Joint analysis of human and bovine serological data: new insight on the risk and mechanisms of transmission of Rift Valley fever in Madagascar. The 14th the International Society for Veterinary Epidemiology and Economics (ISVEE) Congress. Merida, Mexico, November 3-7th 2015,
- **Rakotomanana Fanjasoa**, **Rakotoarison Hobiniaina Anthonio**. Participant. XIIIème Journées scientifiques du Réseau de télédétection, Dakar, Février 2015. La Télédétection et le Système d'Information Géographique, un outil d'aide à la décision dans la lutte contre le paludisme à Madagascar.
- Ihantamalala Felana Angela. Journée des doctorants du Collège Doctoral RAMI, 27 avril au 2 mai 2015, Tuléar. Modélisation des zones vulnérables à la propagation du paludisme en rapport avec la mobilité de la population.
- **Rakotomanana Fanjasoa**. Participant. GEOMED, Florence, Italy. Case studies of GIS in public Health in Madagascar: benefits and limits.
- **Rakotomanana Fanjasoa**. Participant. African Malaria Research Conference, 29-30 Juin 2015, University of Pretoria Centre for Sustainable Malaria Control Pretoria, Afrique du Sud. Panorama of activities linked to vector-borne diseases. Atelier "Malaria and Space".
- Marilys Razakamanana (Août 2015 et janvier 2016) : « Présentation des résultats intermédiaires de l'évaluation économique du projet d'intégration du diagnostic et du traitement de la pneumonie dans la prise en charge communautaire du paludisme », DRSP SAVA Sambava.
- Girond F. African Malaria Research Conference, 29-30 Juin 2015, University of Pretoria Centre for Sustainable Malaria Control. Development of a web based Malaria Early Warning System using mobile health.

#### IV.3. Communication affichée

- L Randriamampionona, L Randrianasolo, T Ramarokoto, CE Ramarokoto, A Randriamanantena, P Piola. Etude de la sensibilité du système de surveillance sentinelle des fièvres à Madagascar. 3ème Journées de la Veille Sanitaire dans l'Océan Indien, Ile Maurice, Octobre 2015.

#### V. Activités de formations, d'enseignement et d'expertise

- Formations données et reçues : 14
- Mémoires soutenus : 6
- Principales implications dans des institutions nationales ou internationales :
  - Membre de l'Akademia Malagasy.
  - Comité Roll Back Malaria (RBM).
  - Membre de l'initiative contre les maladies diarrhéiques et Entériques en Afrique (IDEA).
  - CDC
  - OMS
  - UNICEF.

# Unité des Helminthiases

L'Unité des Helminthiases, constituée du Laboratoire central bilharziose, laboratoire du Ministère de la Santé Publique rattaché au Service de Lutte contre les Maladies Epidémiques et Négligées (SLMEN) de la Direction Générale de la Santé (DGS), est sous la responsabilité technique de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM).

Elle réalise des enquêtes épidémiologiques sur la situation des schistosomiasés et des géohelminthiases dans les différentes régions de l'Ile (enquêtes parasitologiques et malacologiques), assure le suivi et évaluation de la distribution de masse de médicaments (DMM) contre ces parasitoses dans le cadre de l'approche intégrée de la lutte contre les maladies tropicales négligées (MTN), participe à des activités de recherche en collaboration avec d'autres unités de l'IPM ou des laboratoires internationaux, et contribue à la formation des étudiants de l'Université d'Antananarivo, en particulier de la faculté de médecine humaine et de la faculté des sciences.

## I. Activités

Ses activités de diagnostic et de santé publique comprennent :

- Enquêtes épidémiologiques pour connaître la situation des schistosomiasés et des géohelminthiases dans les différentes régions de l'Ile (enquête parasitologique et malacologique) ; Fiche : **LC Bilharziose** ;
- Suivi et évaluation de la distribution de masse de médicaments contre ces parasitoses dans le cadre de l'Approche intégrée de la lutte contre les Maladies Tropicales Négligées; Fiche : **PAUSENS** ;
- Formation des étudiants des facultés de médecine et des sciences; Fiche : **LC Bilharziose**.
- Projet de réhabilitation du Bas Mangoky : Fiche **PRBM**

## II. Personnel de l'unité



### Cadres scientifiques

- **Vololomboahangy Ravaoalimalala**, MD, chef d'unité
- **Fabienne Rasoamanamihaja**, MD, chef de laboratoire (jusqu'en mai 2015)
- **Armand Rafalimanantsoa**, MD, chef de laboratoire (depuis octobre 2015)
- **Pascaline Ravoniarimbinina**, MD, prestataire de service

### Personnel permanent

- Techniciens 2
- Secrétaire 1
- Agent de laboratoire 1

## III. Productions scientifiques

### III.1. Publications

- Randrianasolo BS, Jourdan PM, **Ravoniarimbinina P**, **Ramarokoto CE**, **Rakotomanana F**, **Ravaoalimalala VE**, Gundersen SG, Feldmeier H, Vennervald BJ, van Lieshout L, Roald B, Leutscher P, Kjetland EF. Gynecological manifestations, histopathological findings and Schistosoma-specific Polymerase Chain Reaction results among women with *Schistosoma haematobium* infection: a cross-sectional study in Madagascar. *J Infect Dis*, 2015; 212 (2): 275-84
- Hämäläinen A, Raharivololona B, **Ravoniarimbinina P**, Kraus C. Host sex and age influence endoparasite burdens in the gray mouse lemur. *Frontiers in Zoology*, 2015; 12: 25.

### III.2. Communication orale

- Randrianasolo BS, Jourdan MJ, **Ravoniarimbinina P**, **Ramarokoto CE**, **Rakotomanana F**, **Ravaoalimalala VE**, Gundresen SG, Feldmeier H, Vennervald BJ, van Lieshout L, Roald B, Leutscher P, Kjetland EF. Targeting the burden of schistosomiasis in Madagascar: Gynaecological manifestations of schistosomiasis in an area scaling up mass drug administration of praziquantel. American Society for Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH) 64th Annual Meeting, Philadelphia–USA, octobre 2015

#### IV. Activités de formation, d'enseignement ou d'expertise

- Formations données : 2
- Evaluation des schistosomiasés et des géohelminthiasés dans 360 sites de 24 districts (Projet PAUSENS, financement Banque Mondiale ; fiche : PAUSENS)
- Evaluation des schistosomiasés dans le périmètre irrigué du Bas Mangoky (Projet PRBM, financement Fonds Africain de Développement)

# Unité d'Immunologie des Maladies Infectieuses

Les maladies infectieuses représentent l'une des principales causes de mortalité et de morbidité en Afrique et à Madagascar. Les réponses immunes jouent un rôle crucial dans les défenses contre les agents pathogènes (virus, bactéries, parasites, champignons) à l'origine de ces pathologies. Créée le 1<sup>er</sup> Juillet 2013, l'Unité d'Immunologie des Maladies Infectieuses (IMI) mène des projets de recherche permettant (1) d'étudier finement les mécanismes de défense (réponses immunes cellulaires et anticorps) développés par l'Homme pour lutter contre les maladies infectieuses et (2) de développer des tests de diagnostic sérologique et moléculaire pour des pathologies telles que le Paludisme, la Cysticerose/Neurocysticerose et la Leptospirose, qui ont un impact important sur la Santé des populations à Madagascar, en Afrique et dans l'Océan Indien. Depuis Septembre 2015, l'Unité est aussi impliquée dans le projet AFRIBIOTA qui vise à mieux caractériser, par une approche multidisciplinaire, le syndrome d'entéropathie environnementale pédiatrique qui entretient la malnutrition infantile.

## I. Activités

- Analyse des réponses immunes humorales et cellulaires au cours du paludisme : fiche **IMI-PaluSéro**
- Etude de la dynamique des interactions Hôte-Parasite (*Plasmodium falciparum* et *Plasmodium vivax*) au cours de l'infection palustre : fiche **IMI-PaluVivax**
- Mise au point de tests de diagnostic sérologiques (ELISA, Multiplex) et moléculaires (PCR, qPCR et LAMP), facilement utilisables dans les centres de santé de base et permettant le diagnostic de pathologies telles que la Leptospirose (fiche **IMI-LeptoDiag**) et la Téniasis/Cysticerose (fiche **IMI-CystiDiag**).
- Etude sur le rôle des parasitoses dans les diarrhées de l'enfant et la malnutrition : fiche **MALNUT**
- Associé à des activités de formation/enseignement et de transfert de technologie et en collaboration avec les équipes de recherche de l'Institut Pasteur de Madagascar, de l'Institut Pasteur à Paris et des Instituts du réseau (RIIP), les programmes de recherche menés au sein de l'unité ont pour objectifs, d'une part d'évaluer la réelle prévalence de maladies endémiques à Madagascar (paludisme, Téniasis/cysticerose et leptospirose) et d'autre part, d'assurer un meilleur suivi des stratégies de lutte déployées sur cette île-continent afin de guider la formulation des stratégies d'intervention.

## II. Faits marquants de l'année

- L'analyse des résultats d'une étude sur l'évaluation de la transmission du Paludisme dans 7 districts (96 communes) des Hautes Terres Centrales et des Marges à Madagascar afin d'orienter les Campagnes d'Aspersion Intra-Domiciliaire d'Insecticides (Projet School-Based Malaria Survey). Ce projet de recherche opérationnelle financé par le "President's Malaria Initiative (PMI)/USAID a été mené en étroite collaboration avec l'Unité de Recherche sur le Paludisme, l'Unité d'Epidémiologie et le "Centers for Disease Control and Prevention" (CDC, Atlanta). Les marqueurs sérologiques d'exposition au paludisme (Multiplex-Magpix) sont en cours d'analyse chez les écoliers et leurs parents (deux écoles par commune, 12 000 prélèvements) et serviront de référence pour l'analyse de l'intensité de la transmission du paludisme dans chaque commune.
- La production de plus de 2000 tests de diagnostic rapide (TDR) pour la Leptospirose (bandelettes réactives permettant la détection des IgM anti-leptospores dans le sérum des patients). Ces TDR-Leptospirose ont été validés au sein de l'unité et au CNR Leptospirose à Paris. Les résultats montrent que ces tests sont très stables après conservation à 4°C pendant 3 à 6 mois et à 40°C pendant 6 semaines ouvrant ainsi la perspective de pouvoir les utiliser directement dans les formations sanitaires.
- Le développement d'une technique simple de diagnostic moléculaire par amplification isothermale de l'ADN (LAMP) pour la détection de la neurocysticercose à partir du LCR.
- La production sous forme de protéines recombinantes solubles de 3 antigènes majeurs de cysticerques de *T. solium*. Ces protéines sont en cours de validations et permettront de développer des tests de diagnostic sérologique (ELISA, Western Blot et bandelettes réactives) pour la cysticercose humaine et porcine.
- Le démarrage du projet de recherche sur l'étude de la dynamique des interactions Hôte-Parasite (*Plasmodium falciparum* et *Plasmodium vivax*) au cours de l'infection palustre avec comme site d'étude le District de Maevatanana.
- La Formation sur les "Techniques de l'Immunologie" du 19 au 30 Octobre 2015 à l'IP Madagascar. Cette formation financée par le Réseau International des Instituts Pasteur (RIIP) et par l'Ambassade de France à Madagascar a permis d'accueillir 16 apprenants (étudiants, techniciens, Ingénieurs et chercheurs) de l'IP Madagascar, de l'Université d'Antananarivo, de l'Institut Pasteur de Dakar et de l'Institut Pasteur de Bangui.

### III. Personnel de l'unité



#### Cadres scientifiques

- **Inès Vigan-Womas**, PhD, HDR, chef de l'unité
- **Anjanirina Rahantamalala**, PhD, adjointe au chef d'unité
- **Niry Rabenindrina**, vétérinaire, ingénieur biotechnologie
- **Tsikiniaina Rasoloharimanana**, ingénieur biotechnologie

#### Personnel permanent

- Surveillante 1
- Techniciens 4
- Agent de laboratoire 1

#### Stagiaires

- Thèse de sciences 4
- Master 3

### IV. Productions scientifiques

#### IV.1. Publications

- Kerkhof K, Canier L, Kim S, Heng S, Sochantha T, Sovannaroeth S, **Vigan-Womas I**, Coosemans M, Sluydts V, Ménard D, Durnez L. Implementation and application of a multiplex assay to detect malaria-specific antibodies: a promising tool for assessing malaria transmission in Southeast Asian pre-elimination areas. *Malar J.* 2015 Sep 4;14(1):338. doi: 10.1186/s12936-015-0868-z. PubMed PMID: 26337785.
- Koffi D, Touré AO, Varela ML, **Vigan-Womas I**, Béourou S, Brou S, Ehouman MF, Gnamien L, Richard V, Djaman JA, Perraut R. Analysis of antibody profiles in symptomatic malaria in three sentinel sites of Ivory Coast by using multiplex, fluorescent, magnetic, bead-based serological assay (MAGPIX™). *Malar J.* 2015 Dec 21;14:509. doi: 10.1186/s12936-015-1043-2. PubMed PMID: 26692284.
- Perraut R, Varela ML, Mbengue B, Guillotte M, Mercereau-Puijalon O, **Vigan-Womas I**. Standardization and validation of a multiplex magnetic bead-based for simultaneous detection of IgG to Plasmodium antigens. *J Immunol Tech Infect Dis.* 2015. <http://dx.doi.org/10.4172/2329-9541.1000134>.

#### IV.2. Communications orales

- **Vigan-Womas I.** Address the new challenges for malaria control in Madagascar. Symposium Fiocruz-Institut Pasteur, 8-9 June 2015 – Oswaldo Cruz Foundation, Brazil. Conférencier Invité.

#### IV.3. Communications affichées

- Steinhardt L, Ravaoarisoa E, Wiegand R, Harimanana A, Hedje J, Cotte A, Zigirumugabe S, Kesteman T, Rasoloharimanana TL, Rakotomalala R, Rakotondramanga JM, Butts J, Rogier C, Piola P, Randrianarivojosia M, Vigan-Womas I. A school-based serology study to validate use of routine data for targeting malaria interventions in the Central Highlands of Madagascar - May-July 2014. American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH) 64<sup>th</sup> annual meeting. October 25-29, 2015. Philadelphia, USA.
- Ramandanirainy P, Rahantamalala A, Nativel P, Randriantsoa D, Rakotondrazaka M, Randrianasolo N, Ramiandrisoa S, Rabeniary A, Vincent Porphyre, Harena Rasamoelina-Andriamanivo, Ronan Jambou, Inès Vigan-Womas. Development of serological tools for the “point-of-care” diagnostic and control of cysticercosis in Madagascar.
  - Scientific Symposium of the Institut Pasteur International Network 2015, 14 -16 Octobre 2015 l’Institut Pasteur à Paris.
  - 3<sup>ème</sup> journée du Réseau SEGA One Health, sur la veille sanitaire dans l’Océan Indien, 26 -27 Octobre 2015 à Maurice.

# Unité des Mycobactéries

L'Unité des Mycobactéries comprend le laboratoire des mycobactéries du Centre National de Référence des Mycobactéries (CNRM) qui effectue le diagnostic de référence de la tuberculose pour le Centre de Biologie Clinique (CBC) de l'IPM et pour le Programme National de Lutte contre la Tuberculose (PNLT, Ministère de la Santé). Elle a aussi des activités de surveillance de la résistance aux antituberculeux pour le PNLT. Les antibiogrammes sont réalisés essentiellement pour les cas déjà traités (échec, rechute ou reprise de traitement) dans le cadre du programme de prise en charge des tuberculoses multirésistantes (TB-MR) par le PNLT. Elle effectue la mise en place et l'évaluation de nouveaux outils pour le diagnostic de la tuberculose et des résistances (fiche **CNRM**).

## I. Activités

L'Unité des Mycobactéries mène aussi des activités de recherche, qu'elles soient opérationnelles (en collaboration avec le PNLT), appliquées ou plus fondamentales :

- Etude de la distribution spatiale des souches *Mycobacterium tuberculosis* : fiche **TB-SLIDE**.
- Réponse immune de l'hôte associée aux facteurs bactériens de prédisposition à la dissémination de *Mycobacterium tuberculosis* et à la diversité des formes cliniques de la tuberculose : fiche **TB-Clin-Divers**
- Détection moléculaire de la résistance aux anti-tuberculeux de *Mycobacterium tuberculosis* à partir d'échantillons conservés sur différents supports : fiche **TB-SLIDE DNA**
- Tuberculose latente à Tunis (Tunisie), Antananarivo (Madagascar) et Saint-Louis (Sénégal) : fiche **TB-LaTAS**
- Evaluation des nouvelles méthodes de diagnostic de la tuberculose intrathoracique de l'enfant dans trois villes d'Afrique subsaharienne : Abidjan (Côte d'Ivoire), Yaoundé (Cameroun) et Antananarivo (Madagascar) : fiche **TB-KIDS**
- Optimisation du diagnostic des tuberculoses pulmonaires à microscopie négative et des tuberculoses extra pulmonaires à l'Hôpital Universitaire Joseph Raseta de Befelatanana d'Antananarivo, Madagascar : fiche **Mada-Xpert**
- Analyse de séquences de génomes de souches cliniques *M. tuberculosis* : fiche **TB-Genom**
- Analyse protéomique des souches *M. tuberculosis* résistantes à l'isoniazide : fiche **Prot\_Inh-TB**

L'unité a enfin de nombreuses activités de formation.

## II. Faits marquants de l'année

- Lancement du projet TB-KIDS
- Recrutement des sujets pour le projet TB-LATAS

### III. Personnel de l'unité



#### Cadres scientifiques

- **Voahangy Rasolofo Razanamparany**, PhD, HDR, chef de l'unité
- **Andrianantenaina Rakotoson**, MD, chef du Centre National de Référence des Mycobactéries
- **Niaina Rakotosamimanana**, PhD, adjoint au chef d'unité

#### Personnel permanent

- Surveillante 1
- Techniciens 6
- Agents de laboratoire 2

#### Stagiaires

- Thèse de sciences 4
- Master 2 2
- Master 1 1

### IV. Productions scientifiques

#### IV.1. Publications

- Lastrucci C, Bénard A, Balboa L, Pingris K, Souriant S, Poincloux R, Al Saati T, **Rasolofo V**, González-Montaner P, Inwentarz S, Moraña EJ, Kondova I, Verreck FA, Sasiain Mdel C, Neyrolles O, Maridonneau-Parini I, Lugo-Villarino G, Cougoule C. Tuberculosis is associated with expansion of a motile, permissive and immunomodulatory CD16(+) monocyte population via the IL-10/STAT3 axis. Cell Res. 2015 Dec;25(12):1333-51.
- Troegeler A, Lugo-Villarino G, Hansen S, **Rasolofo V**, Henriksen ML, Mori K, Ohtani K, Duval C, Mercier I, Bénard A, Nigou J, Hudrisier D, Wakamiya N, Neyrolles O. Collectin CL-LK Is a Novel Soluble Pattern Recognition Receptor for Mycobacterium tuberculosis. PLoS One. 2015 Jul 14;10(7):e0132692.

- **Rabodoarivelo MS**, Imperiale B, **Andrianiavomikotroka R**, Brandao A, Kumar P, Singh S, Ferrazoli L, Morcillo N, **Rasolofo V**, Palomino JC, Vandamme P, Martin A. Performance of Four Transport and Storage Systems for Molecular Detection of Multidrug-Resistant Tuberculosis. PLoS One. 2015 Oct 2;10(10):e0139382.
- **Rakotosamimanana N**, Richard V, Raharimanga V, Gicquel B, Doherty TM, Zumla A, **Rasolofo Razanamparany V**. Biomarkers for risk of developing active tuberculosis in contacts of TB patients: a prospective cohort study. Eur Respir J. 2015 Oct;46(4):1095-103.
- **Rakotosamimanana N**, Richard V, Raharimanga V, Gicquel B, Doherty TM, Zumla A, **Rasolofo Razanamparany V**. Early markers for risk of developing active tuberculosis in contacts of TB patients: a prospective cohort study. Tropical Medicine & International Health. Special Issue: Abstracts of the 9th European Congress on Tropical Medicine and International Health, 6-10 September 2015, Basel, Switzerland. Volume 20, Issue Supplement S1, .
- Zumla A, Maeurer M; Host-Directed Therapies Network, Chakaya J, Hoelscher M, Ntoumi F, Rustomjee R, Vilaplana C, Yeboah-Manu D, **Rasolofo V**, Munderi P, Singh N, Aklillu E, Padayatchi N, Macete E, Kapata N, Mulenga M, Kibiki G, Mfinanga S, Nyirenda T, Maboko L, Garcia-Basteiro A, **Rakotosamimanana N**, Bates M, Mwaba P, Reither K, Gagneux S, Edwards S, Mfinanga E, Abdulla S, Cardona PJ, Russell JB, Gant V, Noursadeghi M, Elkington P, Bonnet M, Menendez C, Dieye TN, Diarra B, Maiga A, Aseffa A, Parida S, Wejse C, Petersen E, Kaleebu P, Oliver M, Craig G, Corrah T, Tientcheu L, Antonio M, Rao M, McHugh TD, Sheikh A, Ippolito G, Ramjee G, Kaufmann SH, Churchyard G, Steyn A, Grobusch M, Sanne I, Martinson N, Madansein R, Wilkinson RJ, Mayosi B, Schito M, Wallis RS. Towards host-directed therapies for tuberculosis. Nat Rev Drug Discov. 2015 Aug;14(8):511-2.
- Zumla A, Maeurer M; Host-Directed Therapies Network (HDT-NET) Consortium. Host-Directed Therapies for Tackling Multi-Drug Resistant Tuberculosis: Learning From the Pasteur-Bechamp Debates. Clin Infect Dis. 2015 Nov 1;61(9):1432-8.
- **Ranaivomanana P**, Raharimanga V, Dubois PM, Richard V, **Rasolofo Razanamparany V**. Study of the BCG Vaccine-Induced Cellular Immune Response in Schoolchildren in Antananarivo, Madagascar. PLoS One. 2015 Jul 27;10(7):e0127590.

#### IV.2. Publications affichées

- **N Rakotosamimanana**, Richard V, Raharimanga V, Doherty MT, Gicquel B, Zumla A, **Rasolofo VR**. Biomarkers for Risk of Developing Active Tuberculosis in contacts of TB patients obtained from a prospective cohort study. Scientific Symposium of the Institut Pasteur International Network. October 2015, Institut Pasteur, Paris, France.
- **MS Rabodoarivelo**, B Imperiale, R andrianiavomikotroka, A Brandao, P Kumar, S Singh, L Ferrazoli, N Morcillo, **V Rasolofo**, JC Palomino, P Vandamme, A Martin. Feasibility of four transport and storage supports for molecular detection of multidrug resistant tuberculosis. Scientific Symposium of the Institut Pasteur International Network, 14/10/2015 au 16/10/2015 à l'Institut Pasteur à Paris.
- **MS Rabodoarivelo**, B Imperiale, R andrianiavomikotroka, A Brandao, P Kumar, S Singh, L Ferrazoli, N Morcillo, **V Rasolofo**, JC Palomino, P Vandamme, Performance of four transport and storage systems for molecular detection of multidrug-resistance tuberculosis". 36ème congrès de l' « European Society of Mycobacteriology (ESM) » à Riga, Latvia, 28 juin-01 juillet 2015.
- RA Rakotoarivelo, **V Rasolofo Razanamparany**, J Rakotomizao and DW Denning. The burden of serious fungal diseases in Madagascar. 7th Trends in Medical Mycology (TIMM-7). Lisbon, Portugal, 9-12 October 2015.

- **N Rakotosamimanana**, Raharimanga V, Ratovoson R, Richard V, Zumla A, Doherty MT, Gicquel B, **Rasolofo VR**. Assessing human immune response against different Mycobacterium tuberculosis antigens by IGRA in active pulmonary TB and their household contacts. Keystone, janvier 2015.

#### IV.3. Communications orales

- **Rakotosamimanana N**, Richard V, Raharimanga V, Gicquel B, Doherty TM, Zumla A, **Razanamparany VR**. Early biomarkers associated with progression of Latent Tuberculosis Infection to clinically active disease – a longitudinal cohort study. 46th International Conference of the Union, December 2015. CapeTown, South Africa.
- **Rasolofo Razanamparany V**. Acquisition de la résistance aux antituberculeux. Congrès International de Pneumologie (organisé par la Société de Pneumologie de Madagascar et la Société de Pneumologie de l'Océan Indien). Antananarivo, 9-11 décembre 2015
- **V Rasolofo**, **MS Rabodoarivelo**, NI Ratovonirina, S Razafimahatratra, JC Palomino, C Sola, F Rakotomanana, A Martin. Challenges in setting-up molecular diagnostic tools for tuberculosis drug resistance detection and epidemiology studies in low-income countries. 36th Annual Congress of the European Society of Mycobacteriology, Riga, Latvia. 28/06 – 01/07/2015

### V. Activités de formations, d'enseignement et d'expertise

- Formations données: 1
- Formations reçues : 15
- Enseignements magistraux : 2
- Réunions de l'école doctorale de rattachement à l'Université d'Antananarivo
- Expertise : rapport d'évaluation du test TB-LAMP pour FIND.

#### V.1. Appartenance/participation à des groupes ou comités nationaux ou internationaux

- PNLT – Ministère de la Santé
- Akademia Malagasy
- Association des Léprologues de Langue Française

# Unité de Recherche sur le Paludisme

L'unité « paludisme » a essentiellement pour mission d'éclairer le Ministère de la santé publique sur l'efficacité des outils de lutte recommandés par la politique nationale de lutte contre le paludisme et sur l'endémicité du paludisme à Madagascar. Les thèmes de recherche de l'unité portent sur les médicaments antipaludiques, leur efficacité et le diagnostic biologique du paludisme au sens large du terme. Elle a aussi une importante activité de formation.

## I. Activités

En 2015, ses principales activités ont été les suivantes :

- Evaluation de l'efficacité thérapeutique de la combinaison Artésunate + Amodiaquine dans le traitement du paludisme non compliqué à Madagascar : fiche **Palu-ASAQ**
- Apport du diagnostic biologique dans le contexte de l'élimination du paludisme à Madagascar: fiche **Palu-Diagnostic**
- Evaluation opérationnelle de la lutte intégrée contre le paludisme. Madagascar, Bénin, Côte d'Ivoire, Cameroun, Niger : fiche **PALEVALUT**

L'unité « Paludisme » participe également à plusieurs projets coordonnés par d'autres unités de l'IPM :

- Etiologies des fièvres à Madagascar: fiche **ETIOFEB**
- Le Paludisme à Madagascar : mesure de l'impact des mesures de lutte antipaludique et des changements épidémiologiques sur la transmission et le réservoir: fiche **IMI-PaluSéro**
- Le Paludisme à *Plasmodium vivax* à Madagascar : Caractérisation des nouvelles voies d'invasion de globules rouges/réticulocytes Duffy-négatif: fiche **IMI-PaluVivax**
- Etude des infections filariennes dans le cadre du projet d'appui aux secteurs essentiels de l'éducation nutrition et santé: fiche **PAUSENS**

## II. Personnel de l'unité



## III. Productions scientifiques

- Michel R, Berger F, **Ravelonarivo J**, Dussart P, Dia M, Nacher M, Rogier S, Moua D, Sarr FD, Diop OM, Sall AA, Baril L. Observational study on immune response to yellow fever and measles vaccines in 9 to 15-month old children. Is it necessary to wait 4 weeks between two live attenuated vaccines? Vaccine. 2015 May 11;33(20):2301-6.
- Rist CL, Ngonghala CN, Garchitorena A, Brook CE, Ramananjato R, Miller AC, **Randrianariveლოსია M**, Wright PC, Gillespie TR, Bonds MH. Modeling the burden of poultry disease on the rural poor in Madagascar One Health 2015 : 60–65.
- WWARN Artemisinin based Combination Therapy (ACT) Africa Baseline Study Group. Clinical determinants of early parasitological response to ACTs in African patients with uncomplicated falciparum malaria: a literature review and meta-analysis of individual patient data. BMC Med. 2015 Sep 7;13:212.
- Kamau E, Campino S, Amenga-Etego L, Drury E, Ishengoma D, Johnson K, Mumba D, Kekre M, Yavo W, Mead D, Bouyou-Akotet M, Apinjoh T, Golassa L, **Randrianariveლოსია M**, Andagalu B, Maiga-Ascofare O, Amambua-Ngwa A, Tindana P, Ghansah A, MacInnis B, Kwiatkowski D, Djimde AA. K13-propeller polymorphisms in Plasmodium falciparum parasites from sub-Saharan Africa. J Infect Dis. 2015 Apr 15;211(8):1352-5.

# Unité de Recherche sur la Peste

L'Unité Peste regroupe l'unité de recherche, le Laboratoire Central Peste (LCP) du Ministère de la Santé Publique (MSanP) et l'unité de production de tests de diagnostic rapide de la peste. Le LCP est le laboratoire national référent pour le diagnostic biologique de la peste à Madagascar et dans la région Africaine. Le LCP est aussi un Centre Collaborateur OMS (CCOMS) pour la lutte et les recherches sur la peste.

## I. Activités

Les différentes activités sur la peste voient le concours de plusieurs disciplines et impliquent ainsi d'autres unités de l'IPM : les unités d'épidémiologie, d'entomologie médicale et d'immunologie. Actuellement, les activités de recherches se sont orientées vers la compréhension de la persistance de la peste à Madagascar et aborde en particulier les aspects génétiques de l'épidémiologie, la détermination des facteurs de risque et la modélisation de sa transmission et la recherche des réservoirs en milieux forestiers.

Enfin, le CCOMS peste a continué à assurer des services intéressant les programmes de l'OMS d'intérêt régional et mondial. En effet, l'expertise en matière de tests de diagnostic rapide a permis de répondre aux besoins du pays et d'autres pays extérieurs: fourniture de tests de diagnostic rapide dans le cadre de la recherche (Genève, Paris, Italie).

En 2015, les activités de recherche et de santé publique menées par l'unité étaient les suivantes :

- Suivi épidémiologique de la population du vallon Metzinger et ses abords à Mahajanga : fiche **Peste-ASM-MJG**.
- Surveillance de la sensibilité de *Yersinia pestis* aux antibiotiques: caractérisation d'une nouvelle souche résistante à la streptomycine : fiche **Peste-ATB®**.
- Etude d'infections pesteuses asymptomatiques et du rôle de la réponse immunitaire de l'hôte: **Peste-FAS**.
- Surveillance de la peste murine en zone urbaine d'Antananarivo : fiche **Peste-TANA**
- Etude des zoonoses des rongeurs : facteurs environnementaux et socio-économiques associés aux risques: fiche **PRIZM**.
- Lutte et surveillance des rats dans l'enceinte de l'IPM et les quartiers avoisinants : **fiche Peste-IPM**
- Etude écologique et épidémiologique des petits mammifères de Madagascar. Approche préliminaire : fiche **Peste-SELV**.
- Circulation de la leptospirose chez le bétail dans les tueries d'Antananarivo et de Moramanga : fiche Peste-**LEPTO**.
- Surveillance de la peste humaine à Madagascar en 2014: fiche **LC Peste**
- CCOMS pour la lutte et les recherches sur la peste: fiche **COMS-Peste**.

## II. Personnel de l'unité



### Cadres scientifiques

- **Minoarisoa Rajerison**, PhD, chef de l'unité
- **Jean-Michel Razafimahatratra**, MD, chef du laboratoire central de la peste (jusqu'au 05 décembre 2015)
- **Soanandrasana Rahelinirina**, PhD, mammalogiste
- **Voahangy Andrianaivoarimanana**, PhD, ingénieur-Adjointe
- **Beza Ramasindrazana**, PhD, Ecologiste-Mammalogiste
- **Sandra Telfer**, PhD, scientifique accueillie (Univ. Aberdeen, UK), pi projets

### Personnel permanent

- Surveillante 1
- Project Manager 1
- Techniciens 7
- Secrétaire 1
- Agent de laboratoire 4

### Stagiaires

- Doctorant 3
- Master 4

## III. Productions scientifiques

### III.1. Publications

- Richard V, Riehm JM, Herindrainy P, **Rahelinirina S**, Ratsitoharina M, Rakotomanana F, **Andrianalimanana S**, Scholz HC, **Rajerison M**. Pneumonic plague outbreak, northern Madagascar, 2011. *Emerging Infectious Diseases*. 2015 ; 21(1):8-15.
- Ratsitorahina M, **Rahelinirina S**, Michault A, **Rajerison M**, Rajatonirina S, Richard V. Has Madagascar Lost Its Exceptional Leptospirosis Free-Like Status? *PLoS ONE* 2015 ; 10(4) : e0122683.
- Riehm JM, Projahn M, Vogler AJ, **Rajerison M**, Andersen G, Hall CM, Zimmermann T, **Rahelinirina S**, **Andrianaivoarimanana V**, Straubinger RK, Nottingham R, Keim P, Wagner DM, Scholz HC. Diverse Genotypes of *Yersinia pestis* Caused Plague in Madagascar in 2007. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015 ; 9(6) : e0003844.

### III.2. Communications orales

- **Rahelinirina S**, Duplantier J-M, Goodman S, Rahalison L, Chanteau S, Telfer S, Rajerison M. Seroprevalence of plague infection in small mammals in Madagascar from 1998 to 2014. The 12th African Small Mammal Symposium du 13 au 17 avril 2015 à Mantasoa, Madagascar.
- **Rahelinirina S**, Bourhy P, Rajerison M. Vulnérabilité sanitaire et environnementale dans les bas quartiers d'Antananarivo : cas de la leptospirose et de la peste. Journées de la Veille Sanitaire dans l'Océan Indien du 26 au 27 octobre 2015, Ile Maurice.

### III.3. Communications affichées

- **M. Rajerison**, H. Razafimandimby, **S. Andrianalimanana**, C. Rogier, M. Ratsitorahina, P. Herindrainy and V. Richard. Epidemiological features of pneumonic plague in Madagascar with special emphasis on Ambilobe and Faratsiho events. Troisième édition des Journées de la Veille Sanitaire dans l'Océan Indien 26-27 octobre 2015, Ile Maurice.
- **V. Andrianaivoarimanana**, **M. Rajerison**, R. Rajaonarison, T. G. Rakotondramaro, E. Bertherat, C. Rogier. A complicated pneumonic plague case with MDR-bacterial co-infection in Madagascar. Troisième édition des Journées de la Veille sanitaire dans l'Océan Indien, 26-27 octobre 2015, Ile Maurice.

### III.4. Activités de formation, d'enseignement et d'expertise

- Formations données: 1
- Formations reçues: 3
- Appartenance/participation à des groupes ou comités d'experts nationaux/régionaux
  - Groupe Intersectoriel d'Appui dans la Lutte contre la Peste (GIALP)
  - Equipe de Réponse Rapide-OMS Région Afrique.

# Unité de Virologie

L'Unité de Virologie de l'Institut Pasteur de Madagascar est composée de plusieurs laboratoires partageant la même plateforme : le laboratoire national de référence (LNR) pour la poliomyélite et la rougeole, le centre national de référence pour la grippe (CNRG), tous deux reconnus par l'organisation mondiale de la santé (OMS), le LNR pour la rage et le LNR pour les arbovirus et virus des fièvres hémorragiques. Ces laboratoires sont impliqués dans des activités de surveillance, de recherche et de formation. Les laboratoires de l'unité sont souvent les seuls laboratoires, dans la région, capables de faire le diagnostic de certaines infections virales affectant l'homme ou l'animal.

L'unité dispose par ailleurs d'un laboratoire de niveau de sécurité biologique de type 3 (NSB3) permettant de répondre aux exigences internationales en termes de sécurité pour l'homme et l'environnement lors de la manipulation d'agents hautement pathogènes.

L'unité est impliquée dans de nombreux programmes de recherche impliquant des partenaires malgaches (Ministère de la santé, Université) mais aussi internationaux (Institut Pasteur à Paris, CDC, CIRAD, Wellcome Trust, University of Bangor, Princeton University, etc...).

## I. Activités

### I.1. Activités coordonnées par l'Unité de Virologie

- Surveillance des paralysies flasques aiguës et de la poliomyélite à Madagascar : fiche **SurPolio-PFA**
- Surveillance de la rougeole à Madagascar : fiche **SurvéRo**
- Surveillance des Arboviroses à Madagascar : fiche **SurvArbo**
- Surveillance de la grippe et des infections respiratoires à Madagascar : fiche **SurGIR**
- Surveillance de la Rage à Madagascar : fiche **SurvRage**
- Ecologie Hantavirus à Madagascar et dans l'Océan Indien : Fiche **Hanta-MADOI**.
- Epidémiologie moléculaire des virus de l'hépatite B et E à Madagascar : Fiche **HepMADA**
- La Fièvre de la Vallée du Rift chez l'homme et les bovins à Madagascar : fiche **FVR-ZORA**
- Compréhension des mécanismes de transmission de la Fièvre de la Vallée du Rift dans un site pilote de Madagascar : fiche **RIFT-Antsohihy**
- Zoonoses, rongeurs et arboviroses à Madagascar : fiche **Viro-ZORA**
- Circulation d'EV-A71 et le risque d'épidémie en Afrique : Fiche **EV-A71-PTR484**

### I.2. Activités coordonnées par d'autres équipes

- Etude des zoonoses liées aux rongeurs et des arboviroses à Madagascar : fiche **ZORA/PRISM** (Peste)
- Etude des différentes étiologies des Fièvres à Madagascar : **Fiche ETIOFEB** (Epidémiologie)
- Réseau de surveillance sentinelle des maladies à potentiels épidémiques à Madagascar : fiche **SENTFI** (Epidémiologie)

## II. Faits marquants de l'année

Entre 2014 et 2015, Madagascar a connu une épidémie diffuse de poliomyélite due à la circulation de virus vaccinaux dérivés du vaccin contre la poliomyélite (VDPV de type 1). Dans le cadre de ses activités de surveillance de la Poliomyélite, l'Unité de Virologie par l'intermédiaire de son laboratoire national de référence OMS pour la poliomyélite a appuyé à plusieurs reprises le Ministère de la Santé Publique pour le diagnostic et au cours des investigations de terrain.

Ce laboratoire a par ailleurs démarré la surveillance environnementale du virus de la poliomyélite comme recommandé par l'OMS.

Dans le cadre de la préparation à une éventuelle introduction du virus Ebola à Madagascar ou aux Comores, l'Unité de Virologie a signé une convention avec la Commission de l'Océan Indien (COI) pour la mise en place d'un laboratoire mobile constitué d'une équipe de virologue et épidémiologiste mobilisable dans les 48h sur l'ensemble du territoire malagasy et comorien.

Concernant la surveillance de la grippe, l'Unité de Virologie s'implique dans la mesure de la charge de cette maladie au sein des populations à travers divers projets financés par le CDC et l'OMS.

Enfin, dans le cadre de la formation continue, l'unité a organisé en collaboration avec le CDC une formation internationale sur le diagnostic de la grippe.

## III. Personnel de l'unité



© Institut Pasteur de Madagascar

**Cadres scientifiques**

- **Jean-Michel Héraud**, PhD, chef d'unité
- **Soa Fy Andriamandimby**, MD, adjointe au chef d'unité et responsable du LNR de la Rage.
- **Claudia Filippone**, PhD, responsable du LNR des Arboviroses, des virus des fièvres hémorragiques
- **Richter Razafindratsimandresy**, PhD, responsable du LNR OMS pour la Poliomyélite et la Rougeole
- **Julia Guillebaud**, MSc, responsable du CNR OMS pour la Grippe
- **Norosoza Razanajatovo**, PhD, Ingénieur de recherche au CNR OMS pour la Grippe
- **Lalaina Nomenjanahary**, Vétérinaire

**Personnel permanent**

- Assistant manager de projet 1
- Animaliers 2
- Techniciens 12
- Agents de laboratoire 2
- Secrétaire/surveillant 1
- Correspondant qualité 1

**Stagiaires**

- PhD/MD 4
- Vétérinaire 1
- MSc 2

**IV. Productions scientifiques****IV.1. Publications**

- Gray GC, Anderson BD, LaBeaud AD, **Heraud JM**, Fèvre EM, **Andriamandimby SF**, Cook EA, Dahir S, de Glanville WA, Heil GL, Khan SU, Muiruri S, **Olive MM**, Thomas LF, Merrill HR, Merrill ML, Richt JA. Seroepidemiological Study of Interepidemic Rift Valley Fever Virus Infection Among Persons with Intense Ruminant Exposure in Madagascar and Kenya. *Am J Trop Med Hyg.* 2015 Dec;93(6):1364-70
- Caini S, Huang QS, Ciblak MA, Kuznierz G, Owen R, Wangchuk S, Henriques CM, Njouom R, Fasce RA, Yu H, Feng L, Zambon M, Clara AW, Kosasih H, Puzelli S, Kadjo HA, Emukule G, **Heraud JM**, Ang LW, Venter M, Mironenko A, Brammer L, Mai le TQ, Schellevis F, Plotkin S, Paget J; Global Influenza B Study. Epidemiological and virological characteristics of influenza B: results of the Global Influenza B Study. *Influenza Other Respir Viruses.* 2015 Aug;9 Suppl 1:3-12.
- **Razanajatovo NH**, **Nomenjanahary LA**, Wilkinson DA, Razafimanahaka JH, Goodman SM, Jenkins RK, Jones JP, **Heraud JM**. Detection of new genetic variants of Betacoronaviruses in Endemic Frugivorous Bats of Madagascar. *Virology.* 2015 Mar 12;12(1):42.
- **Andriamandimby SF**, Viarouge C, **Ravalohery JP**, Reynes JM, Sailleau C, Tantely ML, Elissa N, Cardinale E, Sall AA, Zientara S, **Heraud JM**. Detection in and circulation of Bluetongue virus among domestic ruminants in Madagascar. *Vet Microbiol.* 2015 Apr 17;176(3-4):268-73.
- McMorro ML, Wemakoy EO, Tshilobo JK, Emukule GO, Mott JA, Njuguna H, Waiboci L, **Heraud JM**, Rajatonirina S, **Razanajatovo NH**, Chilombe M, Everett D, Heyderman RS, Barakat A, Nyatanyi T, Rukelibuga J, Cohen AL, Cohen C, Tempia S, Thomas J, Venter M, Mwakapeje E, Mponela M, Lutwama J, Duque J, Lafond K, Nzussouo NT, Williams T, Widdowson MA. Severe Acute Respiratory Illness Deaths in Sub-Saharan Africa and the Role of Influenza: A Case Series From 8 Countries. *J Infect Dis.* 2015; 212(6):853-60.
- Alonso WJ, **Guillebaud J**, Viboud C, **Razanajatovo NH**, **Orelle A**, Zhou SZ, Randrianasolo L, **Heraud JM**. Influenza seasonality in Madagascar: the mysterious African free-runner. *Influenza Other Respir Viruses.* 2015 May;9(3):101-9.

#### IV.2. Communications orales

- **Rakotoarisoa A**, Randrianasolo L, **Guillebaud J**, **Razanajatovo NH**, Randriamampionona L, Tempia S, Piola P, Halm A, **Heraud JM**. Evaluation du système de surveillance de la grippe à Madagascar, 2009–2014. 2ème Journées Scientifiques du Réseau SEGA “One Health” Mauritius, 21 - 22 Septembre 2015.
- **Mensah K**, Metcalf J, Brook C, Randriamanantena A, Razafindratsimandresy R, Heraud JM. Incidence of Rubella Infections in Madagascar, 2004-2014. 2ème Journées Scientifiques du Réseau SEGA “One Health” Mauritius, 21 - 22 Septembre 2015.
- **Heraud JM**. Needs, priorities, challenges faced by Madagascar for the introduction of seasonal influenza vaccine into the national programme. Second WHO Meeting on Seasonal Influenza Vaccine Composition for the Tropics and Subtropics. Pune, India, 8 – 10 July 2015.
- **Heraud JM**. Pandemic influenza severity assessment in Madagascar, Technical Working Group Meeting on Influenza Severity Assessment WHO Headquarters, Geneva, Switzerland, 1-2 June 2015
- **Heraud JM**, Harimanana A, **Guillebaud J**, Randrianasolo, Piola P, Ratsitoarina M. Influenza Disease Burden estimates in Madagascar. Consultation on the tool to estimate the economic burden of influenza and the WHO Technical consultation on the Burden of Influenza Disease 8 to 10 December 2015. Geneva, Switzerland, 7 – 10 December 2015.
- **Filippone C**. Laboratory Diagnostic of dengue and chikungunya. Workshop Dengue / Chikungunya, Kampala, Uganda, 23 – 26 June 2015.
- **Olive MM**, **Heraud JM**, Tran A, **Andriamandimby SF**, Rakotomanana F, Rogier C, Grosbois V, Chevalier V. Environmental and behavioural risk factors of Rift Valley fever (RVF) virus transmission in human and cattle in Madagascar. The 3rd International One Health Congress. Amsterdam, Netherlands, 15 – 18 March 2015.
- **Olive MM**, **Heraud JM**, Grosbois V, **Andriamandimby SF**, Tran A, Rakotomanana F, Rogier C, Chevalier V. Joint analysis of human and bovine serological data: new insight on the risk and mechanisms of transmission of Rift Valley fever in Madagascar. The 14th International Society for Veterinary Epidemiology and Economics

#### IV.3. Communications affichées

- **Olive MM**, Chevalier V, Grosbois V, Tran A, **Andriamandimby SF**, Durand B, **Ravalohery JP**, **Andriamamonjy S**, Rakotomanana F, Rogier C, **Heraud JM** (2015). Integrated analysis of environment, human and cattle serological data: risks and mechanisms of transmission of Rift Valley fever in Madagascar. Journées départementales d’Epidémiologie et Infection de l’Institut Pasteur. Chaumont-en-Vexin, France, 19 – 20 October 2015 (Prix du meilleur poster)
- **Razanajatovo N**, **Guillebaud J**, Rajatonirina S, Andrianirina Z, Harimanana A, Piola P, **Heraud JM**. Epidemiology and molecular characteristics of respiratory syncytial virus amongst children under five years in Antananarivo, Madagascar. 9th International Respiratory Syncytial Virus Symposium. Stellenbosch, South Africa, 9 – 13 November 2015.

#### IV.4. Appartenance/participation à des groupes ou comité d’experts nationaux ou internationaux

- International Society for Influenza and other Respiratory Virus Diseases (ISIRV), Bureau Exécutif.
- African Network for Influenza Surveillance and Epidemiology (ANISE), Bureau Exécutif.
- WHO Technical Working Group on Influenza Severity Assessment, Expert Technique.
- International Severe Acute Respiratory and Emerging Infection Consortium (ISARIC), Représentant IPM.

## Groupe G4 Malaria

La Direction Internationale de l'Institut Pasteur à Paris a lancé fin 2012 un nouveau programme intitulé « Groupe à 4 ans » et en 2013, le G4 Group Malaria a été retenu pour développer un programme de recherche fondamentale sur les vecteurs du paludisme (biologie, caractérisation, génétique des populations et la résistance aux insecticides) à l'Institut Pasteur de Bangui (République de Centre Afrique), mais en raison des crises profondes que traverse ce pays, le Groupe G4 a été délocalisé en avril 2015 à l'Institut Pasteur de Madagascar. Le projet de recherche développé à l'IPM s'articule autour de :

- la mesure de la compétence et de la capacité vectorielle des principaux vecteurs du paludisme à Madagascar : Fiche **G4-CV2** ;
- l'étude des déterminants de la transmission résiduelle de paludisme ("Residual Malaria Transmission") : Fiche **G4-RMT**

Il vient en complément de la recherche développée depuis de nombreuses années par l'Unité d'Entomologie Médicale de l'PM.

### I. Faits marquants

- La mise en place d'une plate-forme expérimentale d'infection artificielle à Andriba
- La surveillance entomologique des vecteurs du paludisme à Marovoay
- L'étude des changements du comportement anophélien après mise en place des moustiquaires imprégnées d'insecticides.

### II. Personnel du groupe G4



*Cadres scientifiques*

**Ousmane NDIATH**, PhD, chef Groupe G4

*Personnel permanent*

- Techniciens 1

*Stagiaires*

- Master 1

**III. Productions scientifiques**

- **Ndiath MO**, Cailleau A, Orlandi-Pradines E, Bessell P, Pagès F, Trape JF, Rogier C. Emerging knock-down resistance in *Anopheles arabiensis* populations of Dakar, Senegal: first evidence of a high prevalence of kdr-e mutation in West African urban area. *Malar J.* 2015 Sep 22;14(1):364.
- Wotodjo AN, Trape JF, Richard V, Doucouré S, Diagne N, Tall A, **Ndiath MO** Faye N, Gaudart J, Rogier C, Sokhna C. No difference in the incidence of malaria in human-landing mosquito catch collectors and non-collectors in a senegalese village with endemic malaria. *PLoS One.* 2015 May 12;10(5).
- Gaye A, Bousema T, Libasse G, **Ndiath MO**, Konaté L, Jawara M, Faye O, Sokhna C. Infectiousness of the human population to *Anopheles arabiensis* by direct skin feeding in an area hypoendemic for malaria in Senegal. *Am J Trop Med Hyg.* 2015 Mar;92(3):648-52

# Service Qualité

Chargé de déployer la Politique Qualité de la Direction de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM), le Service Qualité vise à soumettre l'ensemble des activités de l'IPM à une démarche Qualité pour garantir le maintien de prestations de qualité effectuées dans les règles de l'art médical et scientifique.

Le Service Qualité accompagne les différentes unités dans la mise en place d'un Système de Management de la Qualité (SMQ) et d'apporter son soutien aux laboratoires accrédités d'une part, d'évaluer périodiquement la conformité des activités des différents services par rapport aux exigences normatives, réglementaires ou contractuelles d'autre part. Il a en particulier une activité d'audit interne, de formation et d'habilitation à l'audit interne (Fiche **SQ-AQ**).

Le Service Qualité assure aussi des activités de métrologie pour l'IPM afin de garantir la fiabilité, la justesse, la reproductibilité et la fonctionnalité des appareils de mesure en assurant leur raccordement au Système International (SI) de mesure (Fiche **SQ-MET**).

A travers ses actions au sein du Comité Consultatif d'Hygiène et de Sécurité (CCHS), ses activités d'assurance qualité (AQ) et son rôle de conseiller de la Direction, le Service Qualité contribue à assurer la sécurité des personnes et des biens et à préserver l'environnement à l'IPM. Le Service Qualité, est chargé en particulier de veiller au respect de la Politique Hygiène, Sécurité et Environnement (HSE) de l'IPM, d'évaluer les risques professionnels, de sensibiliser et d'assurer la formation du personnel à la biosécurité et au respect de l'environnement (Fiche **SQ-HSE**).

## I. Faits marquants de l'année

L'année 2015 a été marquée par :

- La finalisation dans les délais prévus du programme de formation du personnel sur la qualité en général et sur les normes spécifiques d'accréditation de laboratoire d'essais et de biologie médicale en particulier (NF EN ISO/CEI17025 V2005 et NF EN ISO 15189 V2012).
- Habilitation d'un technicien d'un laboratoire accrédité en métrologie (masses, balances IPFNA et volumétrie). Cette habilitation permet au laboratoire de réaliser en interne et pour son compte les opérations d'étalonnage et de vérification de leurs instruments de mesure.

## II. Personnel de l'unité



### *Cadres*

- **Tiana Rasolonavalona**, chef de service, responsable qualité, chargée de prévention
- **Haja Ramaherison**, qualiticien chargé du CBC

### *Personnel permanent*

- Assistant qualité et HSE 1
- Technicien en métrologie 1

## III. Activités de formations, d'enseignement et d'expertise

Formations données : 2 thèmes pour 21 salariés

- Norme NF EN ISO/CEI 17025:2005 (05 personnes)
- Norme NF EN ISO 15189:2012 (16 personnes, de janvier à décembre)

# Activités de recherche



Recherche

## Activités de recherche

<b>AFRIBIOTA</b> .....	6
<b>ASIDE</b>	
Surveillance environnementale des poliovirus sauvages et des poliovirus dérivés du vaccin.....	8
<b>ASIDE Early Warning System</b>	
Alerting and Surveillance for Infectious Disease Epidemics.....	11
<b>BIRDY</b>	
Bacterial Infections and antibiotic Resistant Diseases among Young children in low income countries ...	13
<b>CAPM</b>	
Complications des avortements provoqués à Madagascar .....	17
<b>ChART</b>	
Dynamique de transmission des bactéries multi-résistantes (BMR) en néonatalogie .....	20
<b>CLINPOC</b>	
Développement d'un outil d'aide au diagnostic associé à un kit POC dans le cadre de la prise en charge des patients consultants pour accès fébrile dans un centre de santé de base à Moramanga : étude pilote .....	24
<b>ENISM 2014</b>	
Enquête Nationale sur l'Iode et le Sel à Madagascar.....	26
<b>Entomo-Eval-Cases</b>	
Évaluation d'un nouveau produit insecticide, le chlorfenapyr, dans les cases pièges.....	29
<b>Entomo-FleaPop</b>	
Structure génétique des populations de <i>Xenopsylla cheopis</i> à Madagascar et à Mayotte .....	32
<b>Entomo-Maldi</b>	
Mise en place de MALDI-TOF, outil d'identification en Entomologie Médicale .....	34
<b>Entomo-Phylo-Flea</b>	
Diversité d'espèces et analyses phylogénétiques des puces de forêts dans les Hauts-Plateaux de Madagascar .....	38
<b>Entomo-Rift</b>	
Étude en laboratoire de la compétence vectorielle pour le virus de la fièvre de la vallée du Rift et de la biologie de <i>Culex antennatus</i> , <i>Anopheles squamosus</i> et <i>Anopheles coustani</i> (Culicidae) de Madagascar .....	41

**ETIOFEB**

Etiologies des fièvres à Madagascar..... 45

**EV-A71-PTR484**

Circulation d'EV-A71 et le risque d'épidémie en Afrique..... 48

**EVA SENTFI**

Etude de la sensibilité du système de surveillance sentinelle des fièvres à Madagascar ..... 50

**FVR-ZORA**

La Fièvre de la Vallée du Rift chez l'homme et les bovins à Madagascar..... 53

**G4-CV2**

Etude de la compétence et de la capacité vectorielle des principaux vecteurs du paludisme à Madagascar ..... 56

**G4-RMT**

Etude des déterminants de la "Residual Malaria Transmission" ..... 59

**GISVEC**

GIS and Vektor Control program to identify priority areas for indoor residual spraying..... 61

**Hanta-MADOI**

Ecologie des Hantavirus à Madagascar et dans l'Océan Indien ..... 64

**HepMada**

Epidémiologie moléculaire des virus de l'hépatite B et E à Madagascar ..... 66

**HMelioid**

Mélioïdose ..... 69

**HTC**

Comparaison entre la recherche active des cas de paludisme et l'administration de masse de médicaments autour d'un cas index de paludisme pour informer le programme national de lutte contre le paludisme sur la meilleure stratégie d'élimination du paludisme : Essai randomisé par grappes dans 17 districts des hautes terres centrales de Madagascar (2016-2019) ..... 73

**i-CCM**

Evaluation économique de l'intégration du diagnostic et du traitement de la pneumonie dans la prise en charge communautaire du paludisme..... 76

**IMI-CystiDiag**

Diagnostic de la Cysticercose à Madagascar : Développement et validation de tests de diagnostic moléculaires (LAMP-Cysti) et sérologiques (Sero-Cysti) pour la cysticercose Humaine et porcine ..... 81

**IMI-LeptoDiag**

Diagnostic sérologique de la leptospirose Humaine à Madagascar..... 85

**IMI-PaluSéro**

Le Paludisme à Madagascar : mesure de l'impact des mesures de lutte antipaludique et des changements épidémiologiques sur la transmission et le réservoir..... 88

**IMI-PaluVivax**

Le Paludisme à Plasmodium vivax à Madagascar : Caractérisation des nouvelles voies d'invasion de globules rouges/réticulocytes Duffy-négatif..... 92

**Kpn**

Role of intestinal carriage in the global emergence of multidrug resistant and hypervirulent clones of *Klebsiella pneumoniae*: a population biology approach ..... 95

**LAMPIK**

Test de diagnostic rapide (LAMP) pour la détection des résistances aux antibiotiques..... 97

**Mada-Xpert**

Optimisation du diagnostic des tuberculoses pulmonaires à microscopie négative et des tuberculoses extra pulmonaires à l'Hôpital Universitaire Joseph Raseta de Befelatanana d'Antananarivo, Madagascar ..... 100

**MALNUT**

Etude sur la malnutrition et infections dans le district de Moramanga et de Morondava, Madagascar . 102

**MALPRED**

Mathematical models on surveillance data to detect epidemic thresholds et GIS technology to visualize trends in malaria incidence ..... 105

**Mhealth**

Mobile Health ..... 108

**MOPPRAM**

Modélisation des zones vulnérables à la propagation du paludisme en rapport avec la mobilité de la population à Madagascar ..... 110

**PALEVALUT**

Evaluation opérationnelle de la lutte intégrée contre le paludisme. Madagascar, Bénin, Côte d'Ivoire, Cameroun, Niger ..... 113

**Palu-ASAQ**

Evaluation de l'efficacité thérapeutique de la combinaison Artésunate + Amodiaquine dans le traitement du paludisme non compliqué à Madagascar..... 117

**PAUSENS**

Projet d'Appui aux Secteurs Essentiels de l'Education Nutrition et Santé..... 120

**Palu-Diagnostic**

Apport du diagnostic biologique dans le contexte de l'élimination du paludisme à Madagascar ..... 124

**Peste-ASM-MJG**

Suivi épidémiologique de la population du vallon Metzinger et ses abords à Mahajanga ..... 127

**Peste-ATB®**

Surveillance de la sensibilité de *Yersinia pestis* aux antibiotiques et caractérisation de la nouvelle souche résistante à la streptomycine ..... 130

**Peste-FAS**

Peste asymptomatique et rôle du système immunitaire de l'hôte..... 132

**Peste-TANA**

Surveillance de la peste murine en zone urbaine d'Antananarivo ..... 135

**Peste-IPM**

Lutte et surveillance des rats dans l'enceinte de l'IPM et les quartiers avoisinants..... 137

**Peste-SELV**

Etude écologique et épidémiologique des petits mammifères de Madagascar : Approche préliminaire 139

**Peste-LEPTO**

Circulation de la leptospirose chez le bétail dans les tueries d'Antananarivo et de Moramanga ..... 142

**PRIZM**

Zoonoses des rongeurs : facteurs environnementaux et socio-économiques associés aux risques (étude à l'échelle du paysage) ..... 144

**Prot\_Inh-TB**

Analyse protéomique des souches *M. tuberculosis* résistantes à l'isoniazide ..... 147

**RIFT-Antsohihy**

Compréhension des mécanismes de transmission de la Fièvre de la Vallée du Rift dans un site pilote de Madagascar ..... 149

**SLIDE-DNA**

Détection moléculaire de la résistance aux anti-tuberculeux de *Mycobacterium tuberculosis* à partir d'échantillons conservés sur différents supports, Madagascar. .... 152

**SENTFI**

Réseau de surveillance sentinelle des maladies à potentiels épidémiques à Madagascar ..... 155

### SSDS

Système de suivi démographique et sanitaire à Moramanga (Madagascar) ..... 158

### TB-Clin-Divers

Réponse immune de l'hôte associée aux facteurs bactériens de prédisposition à la dissémination de mycobactérium tuberculosis et à la diversité de la forme clinique de la tuberculose ..... 161

### TB-Genom

Analyse de séquences de génomes de souches cliniques M. tuberculosis ..... 163

### TB-KIDS

Evaluation des nouvelles méthodes de diagnostic de la tuberculose intrathoracique de l'enfant dans trois villes d'Afrique subsaharienne : Abidjan (Côte d'Ivoire), Yaoundé (Cameroun) et Antananarivo (Madagascar) ..... 165

### TB-LaTAS

Tuberculose latente à Tunis (Tunisie), Antananarivo (Madagascar) et Saint-Louis (Sénégal). Etude pilote. .... 168

### TB-SLIDE

Distribution spatiale des génotypes des souches cliniques mycobacterium tuberculosis à Antananarivo. Etude pilote ..... 171

### Viro-ZORA

Zoonoses, rongeurs et arboviroses à Madagascar ..... 174

**AFRIBIOTA**

Correspondant clinique :

**Rindra RANDREMANANA**Email : [rrendrem@pasteur.mg](mailto:rrendrem@pasteur.mg)

Tél : +261 20 22 412 72

Date de rédaction

29/04/2016

Co-investigateurs IPM

- **Inès Vigan-Womas**, IMI, [ines@pasteur.mg](mailto:ines@pasteur.mg)- **Jean-Marc Collard**, Bact Exp, [jmcollard@pasteur.mg](mailto:jmcollard@pasteur.mg)- **Frédérique RANDRIANIRINA**, CBC, [frederique@pasteur.mg](mailto:frederique@pasteur.mg)- **Alexandra Bastaraud**, LHAE, [abastaraud@pasteur.mg](mailto:abastaraud@pasteur.mg)

Lieux des travaux

HMET, HJRA,  
Antananarivo

Budget total

46 000 €

Co-investigateurs hors IPM :

- **Annick ROBINSON**, HMET, Antananarivo- **Francis HUNALD**, Service de chirurgie pédiatrique, HJRADate début : **juin 2015**Date fin : **juin 2016**Durée (mois) : **12**

Financements :

**RIIP**Mots clés : **entéropathie environnementale pédiatrique, malnutrition, Antananarivo****I. Contexte et justification**

La malnutrition est due à différents facteurs, principalement à une insuffisance d'apport alimentaire en macro et micronutriments. Néanmoins, de nouveaux aspects de la malnutrition ont été récemment identifiés chez les enfants dont le syndrome de l'entéropathie environnementale pédiatrique (EEP) qui est maintenant reconnu comme une entité clinique définie ayant un impact majeur sur la nutrition et la croissance des enfants dans les pays défavorisés, sur la réduction de l'efficacité de certains vaccins, en particulier ceux administrés oralement. L'EEP est considérée comme une inflammation chronique de l'intestin grêle et serait la conséquence d'une exposition répétée à un environnement hautement contaminé par des bactéries. Bien que l'EEP soit un problème majeur de santé publique, à ce jour aucune étude n'a investigué en profondeur les étiologies et la nature de ce syndrome d'un point de vue épidémiologique et physiopathologique. Une meilleure connaissance de l'EEP permettra le développement de tests diagnostiques adaptés aux pays en voie de développement.

**II. Objectif**

Valider sur un échantillon limité les méthodologies et les procédures choisies dans le cadre de cette étude de faisabilité en vue d'une étude ultérieure plus large.

### III. Méthodes

Trois groupes d'enfants de 2 à 5 ans ont été considérés : malnutris chroniques sévères, modérés et normonutris. Ces enfants ont été invités à participer à l'étude s'ils n'ont pas présenté de signes d'infections (fièvre élevée, signes d'infections respiratoires, choc septique), ou n'ayant pas été soumis à des situations ou conditions pouvant avoir des interactions avec l'EEP (prise d'antibiotiques dans les 2 semaines précédentes, régime de renutrition dans les 6 mois précédents), ou si l'état général permet la réalisation des différents examens. Un test VIH a été réalisé chez les enfants présentant les critères d'inclusion, ceux qui ont obtenu des résultats négatifs ont été inclus dans l'étude. Deux centres de recrutement ont participé à l'étude : l'Hôpital Mère Enfant de Tsaralalana pour les enfants malnutris, Service de chirurgie pédiatrique de l'Hôpital Joseph Ravoahangy Andrianavalona pour les enfants normonutris. Il a été prévu d'inclure 10 enfants malnutris chroniques et 5 enfants normonutris.

Différents types de prélèvements ont été effectués :

- sang : pour évaluer l'inflammation systémique, l'atrophie villositaire intestinale (dosage de la citrulline) et les modifications immunologiques
- selles ou écouvillon rectal : pour mesurer l'inflammation locale (calprotectine et alpha-antitrypsine) et étudier la flore intestinale
- urines : pour chercher une éventuelle carence en micronutriments (iode) et tester la perméabilité intestinale (lactitol-mannitol)
- aspiration gastro-duodénale (uniquement chez les enfants malnutris) : pour étudier la flore intestinale et les modifications immunologiques.

Un questionnaire collectant les données pouvant avoir une influence sur le statut nutritionnel et l'EEP a été administré.

### IV. Résultats

L'étude a commencé fin novembre 2015. Jusqu'à la mi-janvier 2016, parmi les 132 enfants de 24-59 mois hospitalisés/consultants, 62,8%(n=83) ont été des malnutris chroniques, 5 enfants ont rempli tous les critères d'inclusion et ont été invités à participer à l'étude. Un enfant a accepté et a été inclus dans l'étude.

### V. Impacts

Le but final de cette étude est de développer des tests diagnostiques rapides, faciles et adaptés au contexte des pays en développement pour l'entéropathie environnementale pédiatrique.

**ASIDE****Surveillance environnementale des poliovirus sauvages et des poliovirus dérivés du vaccin**

Correspondant :

**Richter RAZAFINDRATSIMANDRESY**Email : [richter@pasteur.mg](mailto:richter@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72****Date de rédaction**

02/03/2016

**Lieux des travaux**Antananarivo renivohitra  
et Toliara I**Budget total**

85 000€

Co-investigateurs IPM

- **Jean-Michel HERAUD**, unité de virologie, [jmheraud@pasteur.mg](mailto:jmheraud@pasteur.mg)- **Iony RAZANAJATOVO**, unité de virologie, [ionyr@pasteur.mg](mailto:ionyr@pasteur.mg)Date début : **09/2014**Date fin : **09/2018**Durée (mois) : **48**

Financements :

**Department of Health and Human Services (USDHHS)**Mots clés : **Poliovirus, Surveillance environnementale, Madagascar**

## I. Contexte et justification

L'OMS a inclus la surveillance de l'environnement dans la surveillance des poliovirus (PV) pour l'éradication de la poliomyélite, complétant surveillance des PFA. La surveillance de l'environnement peut être utilisée pour surveiller le poliovirus sauvage et les virus dérivés des poliovirus (VDPV) circulant dans la population.

Comprendre la distribution et de la persistance des entérovirus (EV) dans les eaux d'égouts de différentes zones géographiques peut fournir des informations pertinentes sur l'épidémiologie des infections à EVs circulant dans la communauté, en particulier dans les pays à ressources limitées. Même dans les pays déclarés indemnes de poliomyélite, des enquêtes épidémiologiques et des études environnementales décrivant la présence des EVs dans les eaux usées ont été documentées.

A Madagascar, l'épidémiologie des EVs reste incomplète car l'isolement et la détection des EVs ont été réalisés jusqu'à présent que sur des isolats provenant des cas de PFA. Et à notre connaissance, il n'y a pas des documents sur la détection des EVs à partir des échantillons environnementaux. Dans cette étude, nous examinerons des échantillons environnementaux pour décrire la diversité des EVs dans les eaux usées des zones urbaines et rurales en utilisant la détection moléculaire et analyse de la séquence des gènes viraux.

## II. Objectifs

- Rechercher les EVs, en particulier les poliovirus, dans les échantillons d'eaux usées ;
- Isoler et caractériser (séquençage) les isolats d'EVs collectés dans environnement.

## III. Méthodes

Deux (02) districts (Antananarivo et Toliara) ont été choisis pour faire cette étude. Pour Antananarivo, 5 sites ont été sélectionnés ; 3 pour Toliara.

La collection des prélèvements des eaux usées (1,5 litres) dans chaque site se fait d'une façon trimestrielle.

Le traitement (concentration) des échantillons a été fait suivant le protocole de l'OMS (dextran 40 et PEG 6000). L'isolement des virus se fait en inoculant le concentrat dans des lignées cellulaires sensibles aux EVs (RD et L20B).

Tous les échantillons positifs en L20B seront utilisés pour la détection des PVs en utilisant la technique moléculaire de différenciation intratypique (DIT) (RT-PCT temps réel).

#### IV. Résultats et discussions

En 2015, cinq missions ont été effectuées à Toliara. Elles ont permis de collectionner 23 échantillons d'eaux usées. Les analyses de ces échantillons ont montré que les 3 sérotypes de PV (PV1, 2 et 3) ont circulés. Cependant, ce sont des virus vaccinaux (SL ou Sabin-like).

La collecte des prélèvements à Antananarivo a permis d'avoir 10 échantillons. Les PVs vaccinaux de type 2 et 3 ont été détectés à Besarety et quelques ENPV dans les autres sites (Tableau I).

#### V. Conclusion

Le résultat de cette étude montre que les EVs et les PVs circulent dans la nature. Par contre, aucun PV sauvage ni VDPV n'a été détecté.

#### VI. Impacts

Cette étude devrait fournir des données supplémentaires pour comprendre l'épidémiologie des EVs chez les humains : risques potentiels dans la santé publique (contamination environnementale vers homme).

Cette étude permettra également de contribuer au progrès technologique et scientifique dans notre laboratoire.

**Tableau 1 : Caractéristiques des sites et résultats pendant la détection des poliovirus**

Dates des missions	Districts	Sites (Nbre d'échantillons)	Résultats*
9 – 15 Mars 2015	Toliara	- Ankililoaka (1)	Négatif
		- Saririaka (1)	Négatif
		- Ifaty (1)	Négatif
		- Andranomena (1)	Négatif
		- Tsokobory (1)	Négatif
		- Kiambe (1)	Négatif
15 - 22 Juin 2015	Toliara	- Ankililoaka (1)	Négatif
		- Saint Augustin (2)	Négatif
		- Andranomena (1)	Négatif
		- Kiambe (1)	Négatif
		- Anketsake (1)	Négatif
17 - 21 Août 2015	Antananarivo	- Besarety (1)	SL-2, SL-3
19 -26 Septembre 2015	Toliara	- Canal Tsimenatse Ouest (4)	SL-1, SL-2, SL-3
		- Canal Besakoa Antsirasa (1)	Négatif
26 - 30 Octobre 2015	Toliara	- Canal Tsimenatse Ouest (1)	SL-3
		- Canal Besakoa Antsirasa (1)	Négatif
		- Canal Hotel Paletuvier (1)	Négatif
25 Novembre 2015	Antananarivo	- Ankorondrano (1)	Négatif
		- Ankasina 67ha Nord (1)	ENPV
		- Besarety (1)	ENPV
		- Isotry (1)	ENPV
2 Décembre 2015	Antananarivo	- Ankorondrano (1)	En cours
		- Ankasina 67ha nord (1)	En cours
		- Besarety (1)	En cours
		- Antohomadinika sud (1)	ENPV
		- Tsarasaotra (1)	ENPV
14 - 20 Décembre 2015	Toliara	- Canal Tsimenatse Ouest (1)	En cours
		- Canal Besakoa Antsirasa (1)	En cours
		- Canal Hotel Paletuvier (1)	En cours

\* SL: Sabin-like; ENPV: Entérovirus non polio

## ASIDE Early Warning System

Alerting and Surveillance for Infectious Disease Epidemics

Correspondant :

**Florian Girond**

Email : [fgirond@pasteur.mg](mailto:fgirond@pasteur.mg)

Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction

02/03/2016

Lieux des travaux



Co-investigateurs IPM

- **Patrice PIOLA**, unité épidémiologie [ppiola@pasteur.mg](mailto:ppiola@pasteur.mg)

Date début : **09/2014**

Date fin : **09/2018**

Durée (mois) : **48**

Financements :

**Department of Health and Human Services (US DHHS)**

Mots clés : **Epidémie, Prédiction, Cartographie, Web**

Budget total

50 000 \$

## I. Contexte et justification

Il y a un besoin croissant d'évaluer et de comparer les résultats des différents systèmes d'alerte précoce (Early Warning System), ainsi que les méthodes et techniques utilisées. Tandis que certains systèmes se concentrent sur des aspects de détection et de décision, d'autres systèmes vont d'avantage s'appuyer sur les aspects d'alerte et réponse. Dans le cadre de ce projet, et afin d'être en mesure de proposer une réponse rapide et efficace à la grippe ou à d'autres pathogènes émergents ou ré-émergents, trois pays ont été sélectionnés pour participer au développement d'outils électroniques permettant la collecte rapide, l'organisation, l'analyse et la transmission des données sur les maladies infectieuses en utilisant des normes d'information qui encouragent une interopérabilité dans l'ensemble de la région. Les pays sélectionnés pour participer à ce projet sont le Sénégal, le Cameroun et Madagascar.

Basée sur le système de surveillance des maladies épidémiques à Madagascar, une plate-forme automatisée a été développée par l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM). Cette interface simple et intuitive permet un affichage instantané des résultats d'analyses sous différents formats tels que des graphiques et des cartographies interactives. Les utilisateurs peuvent appliquer plusieurs algorithmes et superposer des courbes de données satellitaires environnementales telles que les températures, les précipitations et l'indice de végétation normalisé (NDVI) afin de générer des hypothèses dans une approche écologique.

## II. Objectifs

- Faciliter les échanges et retours d'expériences sur les différents systèmes d'alertes précoces conçus dans les 3 pays sélectionnés pour l'étude.
- Effectuer une comparaison de ces systèmes avec la suite logicielle dénommée SAGES (Suite for Automated Global Electronic BioSurveillance)
- Evaluer l'interopérabilité des différents systèmes

### III. Méthodes

La suite logiciel SAGES sera mise en place en parallèle du système d'alerte précoce des épidémies de paludisme développé par l'Institut Pasteur de Madagascar afin de tester et de comparer les résultats de manière prospective dans un processus de routine. Cette démarche permettra de mettre en avant les avantages et inconvénients techniques, méthodologiques de chaque système.

### IV. Résultats et discussions

Le système SAGES dans sa version « locale » a été implémenté et testé. La version serveur va être implémentée très prochainement afin de permettre une comparaison en temps réel des alertes dans un processus de routine. L'évaluation des systèmes s'effectuera également sur la base des caractéristiques techniques utilisées dans le développement de la chaîne de traitement automatisé des données allant de la collecte à la diffusion des résultats (application SMS, base de données, la cartographie web).

### V. Impacts

Ces systèmes opérationnels apportent aux acteurs de santé publique des outils et des méthodes leur permettant de suivre et détecter des tendances et d'anticiper le risque de survenue d'une épidémie afin de mettre en place une réponse appropriée.

**BIRDY****Bacterial Infections and antibiotic Resistant Diseases among Young children in low income countries**

Correspondant :

**Jean Marc COLLARD**Email : [jmcollard@pasteur.mg](mailto:jmcollard@pasteur.mg)

Tél : +261 20 22 401 64

**Benoit GARIN**Email : [benoit.garin@pasteur.fr](mailto:benoit.garin@pasteur.fr)

Co-investigateurs IPM

- **Perlinot HERINDRAINY**, unité épidémiologie, [perlinot@pasteur.mg](mailto:perlinot@pasteur.mg)- **Frédérique RANDRIANIRINA**, centre de biologie clinique, [frederique@pasteur.mg](mailto:frederique@pasteur.mg)- **Elisoa RATSIMA-HARINIAINA**, centre de biologie clinique, [elisoa@pasteur.mg](mailto:elisoa@pasteur.mg)

Co-investigateurs hors IPM :

- **Didier GUILLEMOT, Michael PADGET, Bich-Tram HUYNH, Elisabeth DELAROCHE-ASTAGNEAU**, Unité de Pharmaco-épidémiologie et maladies infectieuses (PhEMI), Institut Pasteur, Université de Versailles St Quentin, Paris.- **Maud SEGUY**, Division International, Institut Pasteur à Paris.- **à Antananarivo** : Hôpital de Befelatanana, Hôpital mère-enfant de Tsaralàlana, CENHOSOA, OSTIE, Clinique Fidy, Clinique Ste Fleur, Marie Stopes International.- **à Moramanga** : CHDII, CSBU, CSMI, SMIMO, Dispensaire des soeursDate début : **1/04/2012**      Date fin : **31/03/2017**      Durée (mois) : **60**

Financements :

**Fondation de la Principauté de Monaco, Monaco**Mots clés : **Infections pédiatriques, résistances aux antibiotiques, communautaire****Date de rédaction**

04/02/2016

**Lieux des travaux**

District de Moramanga

**Budget total**

620 000 €

## I. Contexte et justification

Comme le souligne l'objectif 4 du Millenium Development Goal (MDG4), la santé infantile, entre 0 et 5 ans, constitue un axe d'action prioritaire dans les Pays en Développement (PED). Le premier mois de vie est la période où la diminution de mortalité observée reste actuellement la plus faible. Cette période néonatale concentre à elle seule un tiers des décès survenant avant l'âge d'un an, soit 4 millions de décès annuels dont un tiers à une moitié survient à la suite d'infections.

En l'absence de réseau de surveillance, seules des études, principalement transversales, permettent de dresser un état des lieux de la résistance aux antibiotiques des bactéries liées aux infections des jeunes enfants dans les PED. La résistance aux antibiotiques des pathogènes à l'origine des infections néonatales semble avoir atteint un niveau inquiétant, à la fois à l'hôpital et en communauté.

Cependant, la grande hétérogénéité, notamment dans la méthodologie, le choix des populations et les techniques de laboratoire utilisées, rend difficile les comparaisons entre les résultats issus des travaux existants. Les données disponibles sur les infections à bactéries multi-résistantes (BMR) des jeunes enfants restent encore très limitées en PED. Elles permettent cependant de suggérer, d'une part, l'existence d'une mortalité importante liée aux infections bactériennes, et d'autre part, des taux de résistance élevés chez les pathogènes en cause, en contexte hospitalier comme communautaire.

## II. Objectifs

L'objectif principal de ce projet est d'évaluer l'incidence ainsi que les conséquences médicales et économiques des infections graves néonatales et infantiles causées par des bactéries résistantes aux antibiotiques. L'enquête concerne à la fois les infections associées aux soins de santé et celles acquises en collectivité. [<http://www.charliproject.org>]

## III. Méthodes

### III.1. Population de l'étude et recrutement

Cohorte de nouveaux nés et d'enfants jusqu'à l'âge de 18 mois. Le recrutement se fait à 2 moments : au moment de l'accouchement ou en amont de l'accouchement lors d'une phase appelée pré-inclusion. L'exhaustivité du recrutement des naissances vivantes dans la population/zone géographique rural/urbain, est recherchée. Les sites d'étude sont constitués de trois quartiers du 3<sup>ème</sup> arrondissement de la Commune Urbaine d'Antananarivo (CUA) : Avaradoha, Besarety, Soavinandriana et de 6 quartiers de la Commune Urbaine de Moramanga : Ambohimadera, Ambohitranjavidy, Moramanga ville, Tanambao, Tsarahonenana, Tsaralalàna.

Le suivi des enfants est réalisé sur les 18 premiers mois de vie. En cas de fièvre authentifiée ( $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ), l'enfant est examiné par un médecin, soit dans un centre de santé, soit à l'hôpital de niveau 1 ou de proximité. Les prélèvements biologiques sont acheminés au Centre de biologie clinique (CBC) de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) où ils sont analysés.

### III.2. Prise en charge thérapeutique de l'enfant

Elle est tout d'abord empirique selon les « standard operating procedures » de l'OMS, puis guidée par les résultats d'analyses microbiologiques qui sont transmises au médecin. Dans le cas d'une entérobactérie résistante aux céphalosporines, le traitement par l'imipénème est fourni si nécessaire.

### III.3. Biobanque

Au CBC et à l'Unité de bactériologie expérimentale à l'IPM, chaque souche isolée est congelée et conservée dans un congélateur à  $-80^{\circ}\text{C}$ , de même que certains prélèvements.

## IV. Résultats et discussions

Durant la phase pilote de l'étude (du 17 septembre 2012 au 31 octobre 2014), 1161 enfants ont été inclus et suivis jusqu'à l'âge de 6 mois. La phase complète du programme BIRDY a commencé le 01 novembre

2014 et prévue se terminer le mois de mars 2017. La durée de suivi des enfants inclus dans le programme complet est de 18 mois. Au 31/12/2015 (40 mois après le démarrage du projet BIRDY), le bilan de l'activité était le suivant :

	Antananarivo	Moramanga	Total
Femmes enceintes	624	784	<b>1408</b>
Enfants	727	1061	<b>1788</b>
Arrêt prématurés	119	105	<b>224</b>
Décès	15	13	<b>28</b>
Enfants en cours de suivi	199	424	<b>623</b>

La dernière pré-inclusion des femmes était le 30 septembre 2015. A partir du 01 octobre 2015, le projet BIRDY ne fait plus de nouvelles inclusions de bébés (sauf inclusion des bébés nés des mères pré-incluses jusqu'au 30 septembre 2015).

Une première analyse a été faite dans le cadre d'une thèse professionnelle par Fanny Chéreau (2012-2013) sur le portage de bactéries productrices de BLSE chez les femmes enceintes. Dans son étude, 139 des 179 femmes interrogées avaient subi un prélèvement de selles analysable. La recherche d'E(entérobactéries)-BLSE était positive pour 16 prélèvements. La prévalence de colonisation par des E-BLSE était de 11,5% (Intervalle de confiance (IC95%) 6.1-16.9) et ne différait pas significativement entre milieu rural et milieu urbain. L'espèce bactérienne majoritairement isolée était *Escherichia coli*. Au total, 26% des femmes ont déclaré avoir consommé des antibiotiques pendant la grossesse. En analyse multivariée, seul l'accès privatif à l'eau de boisson restait un facteur de risque significatif (OR=7.3 ; IC95% 1.7-30.7). L'utilisation d'une antibiothérapie récente était associée à la colonisation avec un OR de 2.5, (IC95% 0.7-8.7).

Depuis novembre 2013, le programme BIRDY a engagé un partenariat avec la mutuelle de santé AFAFI (Aro ho an'ny FAhasalaman'ny Flanakaviana) afin qu'elle puisse proposer une couverture santé à une population recrutée dans l'étude pilote (environ 500 familles). Le partenariat a pour objet l'extension de la couverture des soins de santé aux mamans BIRDY, ainsi qu'aux membres de famille des bébés BIRDY.

Différents projets satellites greffés sur le programme BIRDY ont démarré en octobre 2015, à savoir :

- Role of intestinal carriage in the global emergence of multidrug resistant and hypervirulent clones of *Klebsiella pneumoniae*: a population biology approach.
- Dynamic properties of the intestinal microbiota and the risk of acquiring antibiotic-resistant bacteria
- Transmission of mother to child ESBL producing Enterobacteriaceae in Madagascar.
- Non-prescribed Antibiotics for Children in Madagascar-Sources, Distribution Patterns, and Chemical Analysis.

## V. Impacts

Les données épidémiologiques et microbiologiques recueillies jusqu'à la fin du projet permettront de décrire au niveau local les taux d'incidence des différentes étiologies bactériennes à l'origine d'infections sévères chez le nouveau-né et le jeune enfant, ainsi que les profils de résistance et les

facteurs de risques associés. Ce travail permettra aussi de guider le choix des traitements empiriques et à terme pour aider à l'amélioration globale des soins que nécessite ces infections par l'élaboration de lignes directrice mieux adaptés aux spécificités locales. Par ailleurs, la mise en place d'une cohorte de jeunes enfants pourrait aussi servir de support pour la construction d'une véritable plate-forme de recherche appliquée permettant l'évaluation de vaccins, et d'outils de diagnostics rapides.

## VI. Productions scientifiques

### VI.1. Publications

- Chereau F, Herindrainy P, Garin B, Huynh BT, Randrianirina F, Padget M, et al. ESBL- and NDM-1-Producing Enterobacteriaceae Colonization Among Pregnant Women in the Community in a Low Income Country: a Potential Reservoir for Transmission of Multi-Resistant Enterobacteriaceae to Neonates. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015 Apr 6.
- Huynh BT, Padget M, Garin B, Herindrainy P, Kermorvant-Duchemin E, Watier L, et al. Burden of bacterial resistance among neonatal infections in low income countries: how convincing is the epidemiological evidence? *BMC infectious diseases*. 2015;15(1):127.

### VI.2. Communications orales ou affichées

- Chereau F, Herindrainy P, Huynh BT, Padget M, Randrianirina F, Piola P, Guillemot D, Garin B, Delarocque-Astagneau E. ESBL-producing Enterobacteriaceae colonization among pregnant women in the community in Madagascar. 16th International Congress on Infectious Diseases, Cape Town, South Africa, April 2-5, 2014.

**CAPM****Complications des avortements provoqués à Madagascar**

Correspondant :

**Rila RATOVOSON**Email : [rila@pasteur.mg](mailto:rila@pasteur.mg)

Tél : +261 20 22 401 64

**Date de rédaction**

25/04/2016

Co-investigateurs IPM

- **Patrice PIOLA**, unité d'épidémiologie, [ppiola@pasteur.mg](mailto:ppiola@pasteur.mg)- **Aina HARIMANANA**, unité d'épidémiologie, [aharim@pasteur.mg](mailto:aharim@pasteur.mg)- **Vaomalala RAHARIMANGA**, unité d'épidémiologie, [rvmalala@pasteur.mg](mailto:rvmalala@pasteur.mg)- **Marielle JOUSSE**, unité d'épidémiologie, [mjousse@pasteur.mg](mailto:mjousse@pasteur.mg)**Lieux des travaux**

District de Moramanga

**Budget total**

232 681 \$

Co-investigateurs hors IPM :

- **Domoina RANDRIAMBOLOLONA**, Centre Hospitalier Universitaire Gyneco-Obstétrique (CHUGO) Befelatanana, Antananarivo- **Jean Pierre RAKOTOVAO**, Johns Hopkins Program for International Education in Gynecology and Obstetrics (JHPIEGO) MadagascarDate début : **2015**Date fin : **2016**

Durée (mois) :

Financements :

**USAID**Mots clés : **Madagascar, suivi, démographie, santé****I. Contexte et justification**

Les trois principales causes de mortalité maternelle dans le monde sont l'hémorragie, la septicémie due à l'accouchement et l'avortement à risque. Selon l'OMS, l'avortement à risque est une procédure pour mettre fin à une grossesse non attendue réalisée par du personnel sans la compétence nécessaire ou dans un environnement non conforme avec les standards médicaux minimums ou les deux. Les complications de l'avortement sont moindres dans les pays où l'avortement est autorisé. Par-contre, l'incidence de la morbidité et mortalité liée à l'avortement reste élevée dans les pays où l'accès à l'avortement est limité voire interdit.

Madagascar se distingue sur le continent africain par une loi particulièrement restrictive sur l'avortement et une très forte résistance à l'assouplissement de cette loi. Pourtant, des études montrent que l'avortement est fréquemment pratiqué à Madagascar. Selon une enquête nationale réalisée en 2010, les complications d'avortement constituent la 2<sup>ème</sup> cause de décès maternels dans les formations sanitaires après les hémorragies ante et post-partum. Toutefois, les femmes qui présentent des complications d'avortements ne viennent pas toutes demander de l'aide médicale soit par peur d'être dénoncées aux autorités judiciaires par les personnels de santé soit pour des raisons financières.

## II. Objectifs

L'objectif principal de ce projet de recherche est de faire un état des lieux des complications de l'avortement à risque et de leurs déterminants dans la communauté en zone rurale et urbaine. Il est prévu d'utiliser ces résultats pour réaliser ensuite un essai d'intervention en communauté afin d'améliorer la prise en charge des complications graves des avortements provoqués à Madagascar.

## III. Méthodes

Du fait de la sensibilité du sujet à Madagascar, 2 types d'étude sont réalisés: une étude qualitative anthropologique et une étude quantitative épidémiologique.

L'enquête anthropologique est réalisée à Antananarivo, et dans la région sud de Madagascar, en zone urbaine et rurale. Des entretiens semi directifs sont réalisés auprès du personnel médical, paramédical, des matrones et des femmes qui ont pratiqué des avortements.

L'enquête épidémiologique est une étude observationnelle comprenant 2 volets :

- une étude en communauté : toutes les femmes âgées de 18-49 ans résidentes dans les ménages tirés au sort et localisées dans les zones d'études sont invitées à participer. En estimant la prévalence annuelle des complications des avortements à risque à 0,13% de la population générale (17% des femmes en âge de procréer, dont 3% d'avortement à risque estimé par an, parmi lesquelles 25% évolueraient vers une complication dont 10% seraient une complication grave: décès ou pelvipéritonite ou choc infectieux) un échantillon de 17 318 individus serait nécessaire pour évaluer la prévalence sur 10 ans des complications des avortements à risque chez les femmes en âge de procréer avec un niveau de confiance à 95%, une précision de 0,6% et 20% de refus attendu, Ce nombre de sujets nécessaires a été réparti équitablement dans 10 districts de Madagascar, en zone urbaine et rurale.
- une étude dans les formations sanitaires et chez les matrones : les femmes âgées de 18-49 ans venant en consultation externe pour planning familial sont enquêtées. Cette étude descriptive se déroulera dans toutes les formations sanitaires et auprès des matrones des zones étudiées,

Pour affiner les résultats sur les complications d'avortements à risque, les femmes hospitalisées pour une complication d'avortement au Centre Hospitalier Universitaire de Gynécologie Obstétrique de Befelatanana Antananarivo et au Centre Hospitalier de District de Moramanga ont été aussi invitées à participer à l'étude. Ces dernières ont été soumises à un questionnaire spécifique à l'admission ainsi qu'à un prélèvement pour examen bactériologique.

## IV. Résultats et discussions

L'étude en milieu hospitalier s'est déroulée du 04 mai au 15 aout 2015. 308 patientes consultant pour des soins faisant suite à un avortement ont été incluses dans les 2 centres hospitaliers, parmi lesquelles 104 ont déclaré leur avortement, 25 (26%) patientes ont présenté une infection et 4 sont décédées. Les facteurs associés au risque de développer une infection génitale haute après un avortement provoqué ont été :

- au moins une manœuvre endo-utérine réalisée pour avorter (Odds ratio ajusté ORa=12,81 Intervalle de confiance à 95% IC95% [2,21-73,99]),

- le fait de consulter un autre centre public comme premier recours au soin (ORa=11,86 IC95% [1,74-80,90]),
- L'utilisation d'une méthode médicamenteuse pour avorter diminue le risque d'infection (ORa=0,09 IC95% [0,01-0,66]).
- Les facteurs qui diminuent les risques de complications avec mise en jeu du pronostic vital sont :
  - la patiente a réalisé le geste elle-même (RCa=0,34 IC95% [0,14-0,80]),
  - l'utilisation d'une méthode médicamenteuse pour avorter (RCa=0,36 IC95% [0,15-0,87]).

L'établissement du diagnostic d'avortement provoqué suivi de geste thérapeutique avant l'admission à l'hôpital augmente le risque de complication (RCa=3,62 IC95% [1,03-12,7]).

L'étude en communauté, auprès de 17 318 personnes, se déroule dans 7 zones. En 2015 ont été enquêtées: la commune urbaine d'Antananarivo, Moramanga, Toliary, Androy, Ambovombe, Sambava et Vohémar. Sur 2 494 femmes âgées de 18-49 ans enregistrées, 2060 (82,6%) ont accepté de participer. Sur 487 avortements déclarés par ces femmes, 276 (56,7%) étaient des avortements provoqués. Les femmes qui ont effectué des avortements provoqués sont les moins motivées à rechercher des soins lors de complications (table 1).

Table 1. Distribution des types d'avortement selon la recherche de soins médicaux au cours des complications.

Femmes qui consultent	Avortements provoqués	Avortements spontanés	Total	p
Oui	111 (43,5%)	144 (56,5%)	255	<0.001
Non	165 (71,1%)	67 (28,9%)	232	
Total	276 (56,7%)	211 (43,3%)	487	

*Il s'agit d'un résultat préliminaire. Les collectes de données continuent jusqu'en Avril 2016.*

## V. Impacts

Strictelement interdit dans le pays, l'avortement provoqué reste un grand problème de santé publique à Madagascar. Les résultats de cette étude permettront d'approfondir les connaissances sur les avortements provoqués et de proposer de meilleures interventions pour réduire sa morbidité et mortalité.

## VI. Production scientifique

### VI.1. Mémoire

- JOUSSE M. Les complications sévères de l'avortement à risque à Madagascar : la place des infections. Mémoire de Master 2 Santé Publique Santé Internationale. ISPED Université de Bordeaux 2.

## ChART

## Dynamique de transmission des bactéries multi-résistantes (BMR) en néonatalogie

Correspondant :

**Jean Marc COLLARD**Email : [jmcollard@pasteur.mg](mailto:jmcollard@pasteur.mg)

Tél : +261 20 22 412 72

**Benoit GARIN**Email : [benoit.garin@pasteur.fr](mailto:benoit.garin@pasteur.fr)

Co-investigateurs IPM

**Volasoa ANDRIANOELINA**, bactériologie expérimentale

Co-investigateurs hors IPM :

- **Zo ZAFITSARA**, service de néonatalogie, CENHOSOA, Antananarivo- **Lulla OPATOWSKI**, unité de pharmaco-épidémiologie et maladies infectieuses, Institut Pasteur à ParisDate début : **1/01/2014**Date fin : **1/01/2016**Durée (mois) : **24**

Financements :

**Institut Pasteur à Paris, ACIP A-22-2013**Mots clés : **Portage, colonisation, BMR, néonatalogie, environnement**

Date de rédaction

26/01/2015

Lieux des travaux

Antananarivo, Madagascar

Budget total

13 500 €

## I. Contexte et justification

La diffusion des bactéries multi-résistantes (BMR) a un impact important sur les établissements de santé du monde entier, aggravant le pronostic des malades infectés et augmentant les dépenses liées à leur prise en charge. Malgré le peu de données de qualité disponibles, quelques études ont montré que ces BMR ont largement diffusé dans les hôpitaux africains. Les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) et les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (EBRCIIIG) sont les BMR les plus préoccupantes. La résistance des EBRCIIIG est principalement assurée par la production de bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) de type CTX-M dont la diffusion est qualifiée de pandémie. La résistance à la méthicilline des *S. aureus* est liée à la synthèse d'une protéine de liaison à la pénicilline, la PLP2a, qui possède une faible affinité pour les bêtalactamines. Quelques clones de SARM ont émergé et sont responsables à eux seuls de la plupart des infections nosocomiales dans le monde, bien que la majorité des clones majeurs en Afrique soient rarement retrouvés sur les autres continents. Les infections néonatales dans les PVD sont considérées comme une cause prédominante de létalité et ont été identifiées comme un axe d'amélioration indispensable pour faire reculer la mortalité infantile. Les étiologies bactériennes sont en majorité des entérobactéries multi-résistantes aux antibiotiques d'acquisition nosocomiale. L'infection néonatale est considérée comme l'étape finale succédant à une série d'évènements antérieurs de portage, de colonisation et de contamination de la mère, du personnel soignant et de l'environnement. En effet, les infections ne représentant que la partie « émergée de l'iceberg » et l'analyse épidémiologique de la résistance se doit aussi d'évaluer aussi les prévalences de portage et les dynamiques d'acquisition et de transmission.

## II. Objectifs

L'objectif principal de ce projet est de mesurer et d'analyser les événements de transmission inter-individuelle d'EBRCIIIG de manière à modéliser la transmission de ces bactéries dans un service de néonatalogie.

## III. Méthodes

### III.1. Population

Il s'agit d'une cohorte prospective constituée de nouveau-nés hospitalisés, de l'accompagnant principal et de l'ensemble des personnels soignants dans le service de néonatalogie, de l'hôpital CENHOSOA à Antananarivo.

### III.2. Inclusion des participants

A l'inclusion, des prélèvements systématiques du nouveau-né, de son accompagnateur principal et de l'ensemble du personnel soignant sont effectués pour détecter la colonisation des EBRCIIIG au niveau intestinal. Le portage d'EBRCIIIG au niveau des mains est recherché uniquement chez l'accompagnant principal et le personnel soignant. En présence de lésions cutanées, un prélèvement est effectué pour détecter la colonisation par EBRCIIIG, mais également des bactéries pathogènes. Les données sur les caractéristiques socio-démographiques et les antécédents médicaux sont aussi collectées.

### III.3. Suivi des participants

Le type de prélèvements est le même qu'à l'inclusion. Le rythme de ces prélèvements dépend de la durée de l'hospitalisation : pour les nouveau-nés et l'accompagnant principal, tous les 7 jours, si la durée d'hospitalisation est >7 jours, dans le cas contraire, uniquement lors de la sortie de l'hôpital. Le personnel soignant est prélevé de façon hebdomadaire. Pour l'accompagnant principal et le personnel soignant, la recherche d'EBRCIIIG au niveau des mains se fait tous les deux jours. En présence de lésions cutanées, un prélèvement de ces lésions est effectué pour détecter la colonisation par EBRCIIIG, mais également par des bactéries pathogènes. Les données enregistrées concernent les facteurs de risque présumés de portage/colonisation et de transmission : topologie relationnelle, les actes invasifs effectués, l'administration d'antibiotiques que ce soit de manière préventive ou curative, la consommation d'antibiotiques de l'accompagnant principal, les hospitalisations et les périodes de travail du personnel soignant.

### III.4. Recherche d'EBRCIIIG dans l'environnement

Des prélèvements environnementaux sont réalisés en début, milieu et fin de projet sur les sources de contaminations à risque. Les données générées ne sont pas utilisées dans le modèle mathématique de transmission des BMR mais elles permettent d'identifier des points critiques pour définir des recommandations afin de diminuer les contaminations.

### III.5. Recueil des données bactériologiques

- **Prélèvements** : Les prélèvements pour la recherche d'EBRCIIIG sont réalisés par écouvillonnage des éventuelles lésions cutanées, de l'ampoule rectale ou sur une émission de selles. Les prélèvements de la flore cutanée sont réalisés par apposition des doigts de la main (2, 3 et 4) sur une gélose sélective. Les prélèvements environnementaux sont réalisés par gélose contact ou écouvillonnage.

- **Procédures microbiologiques** : Les étapes de microbiologie clinique comprennent des cultures sur milieux sélectifs, une identification, un antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie et une conservation par congélation à -80°C des colonies.

### III.6. Plan d'analyse

Les données seront analysées à l'aide de modèles statistiques et mathématiques de la dynamique de transmission des bactéries.

## IV. Résultats et discussions

L'étude a débuté le 27/08/2014. Vingt-deux (22) nouveau-nés (68 écouvillonnages rectaux), 24 accompagnants (48 émissions de selles, 62 appositions de doigts) et 21 personnels soignants (105 émissions de selles, 268 appositions de doigts) ont été inclus et 98 prélèvements environnementaux effectués. A la fin des inclusions (06/03/2015), 649 prélèvements étaient disponibles pour l'étude. Après culture sur milieu sélectif CHROMagar ESBL, 25% des prélèvements (N=163) avaient donné des colonies, parfois de différents morphotypes. Au total, 322 souches ont pu être isolées, et la majorité de ces souches est représentée par les espèces *Escherichia coli* (36%), *Klebsiella pneumoniae* (34%) et *Enterobacter* spp. (17%), mais aussi par d'autres bactéries minoritaires comme *Cronobacter sakazakii*, *Stenotrophomonas maltophilia* et *Acinetobacter* spp. Parmi ces bactéries 89% (N=213) produisaient une BLSE.

Les prévalences de colonisation par des BMR à l'inclusion pour les nouveau-nés, accompagnants et personnels soignants étaient respectivement 41% (IC 95% : 19-63), 46% (IC 95% : 26-66), 38% (IC 95% : 16-60). Les taux d'acquisition (acquisition prolongée ou temporaire) pour les non-porteurs après l'inclusion étaient de 62% (IC 95% : 37-87), 46% (IC 95% : 19-73) et 23% (IC 95% : 0-46) respectivement pour les personnels soignants, les nouveau-nés et les accompagnants.

Un séquençage du génome de 79 souches supposées être liées sur un critère phénotypique (antibiogramme) et spatio-temporel est en cours afin d'établir des liens phylogéniques entre ces différentes souches et d'identifier les différents clones circulant sur le lieu de l'étude. Cette étape permettra de déterminer ensuite la dynamique de transmission entre enfants, accompagnants, personnel soignants et environnement. Cette caractérisation permettra aussi de quantifier la transmissibilité relative des différents clones entre les personnes et de déterminer les différentes routes de transmission. Le but de ce travail est d'identifier les dangers et étapes critiques de la transmission des BMR en milieu hospitalier (service de néonatalogie) dans un pays en voie de développement pour en permettre la maîtrise.

## V. Impacts

### Mise en place d'intervention guidée par la scénarisation du modèle

Le modèle qui sera développé et paramétré pourra être directement utilisé en vue de guider la mise en place de mesures de contrôle visant à réduire la transmission des BMR dans les services. En effet, plusieurs stratégies de contrôle (ou combinaisons d'entre elles) pourront être simulées et leur effet sur la prévalence des BMR dans les services comparés. Il sera ainsi possible d'évaluer l'effet de différentes politiques d'hygiène, d'exposition aux antibiotiques ou de réorganisation dans les services sur la diffusion des clones et d'identifier les mesures ou combinaisons de mesures les plus efficaces.

## VI. Productions scientifiques

En cours de rédaction.

**CLINPOC**

Développement d'un outil d'aide au diagnostic associé à un kit POC dans le cadre de la prise en charge des patients consultants pour accès fébrile dans un centre de santé de base à Moramanga : étude pilote

Correspondant :

**Amélie DUREAULT**Email : [dureaultamelie@yahoo.fr](mailto:dureaultamelie@yahoo.fr)

Tél : +261 20 22 401 64

Date de rédaction

25/04/2016

Co-investigateurs IPM

- **Patrice PIOLA**, unité d'épidémiologie, [ppiola@pasteur.mg](mailto:ppiola@pasteur.mg)- **Rila RATOVOSON**, Unité d'Epidémiologie- **Laurence RANDRIANASOLO**, Unité d'Epidémiologie- **Julia GUILLEBAUD**, Unité de Virologie- **Léa RANDRIAMAMPIONONA**, Unité d'Epidémiologie- **Rindra RANDREMANANA**, unité d'épidémiologie, [rrandrem@pasteur.mg](mailto:rrandrem@pasteur.mg)Date début : **1/3/2015**Date fin : **15/12/2015**Durée (mois) : **6**

Financements :

**IPM ; USAID**Mots clés : **Madagascar, diagnostic, Point of Care, santé**

Lieux des travaux

District de Moramanga

Budget total

20 000 €

## I. Contexte et justification

Le développement des Tests de Diagnostic Rapides (TDR) au cours des dernières années représente une opportunité d'améliorer la prise en charge des patients des pays à faible revenu, en particulier au niveau communautaire où les laboratoires d'analyses sont inexistantes ou inaccessibles.

## II. Objectifs

Objectif principal: Evaluer l'utilité d'un kit diagnostique composé de 9 TDR (VRS, Grippe, Hémoglobine, Oscope, Saturation en oxygène, Glycémie, Strepto-Test, CRP, Bandelette urinaire) pour améliorer la prise en charge des patients consultants pour accès fébrile dans un centre de santé de base en zone semi rurale à Moramanga, Madagascar.

Objectifs secondaires : 1) Evaluer les effets sur la prescription d'antibiotiques et le taux d'hospitalisation de l'utilisation de cet outil diagnostique. 2) Evaluation coût-efficacité de l'utilisation de cet outil diagnostique dans la prise en charge des accès fébriles en CSB. 3) Proposer par simulation un kit simplifié avec une utilité équivalente en excluant les tests n'ayant pas prouvé leur utilité diagnostique.

## III. Méthodes

Tous les patients consultants âgés de plus de 6 mois étaient inclus dans l'étude. L'approche diagnostique était composée de 3 étapes successives : 1) consultation classique (incluant un TDR

paludisme) par un des médecins du Centre de Santé Materno-Infantile (CSMI) avec diagnostic initial, 2) utilisation de l'outil diagnostique avec recherche systématique d'un panel de signes cliniques permettant le calcul des probabilités pré-test pour 10 pathologies choisies pour leur fréquence ou leur sévérité (Syndrome viral respiratoire, Pneumonie bactérienne, Pyélonéphrite, Otite moyenne aigue, Paludisme sévère, Malnutrition Aiguë Sévère (MAS) compliquée, Anémie sévère, Maladie fébrile sévère, Angine streptococcique, Dysenterie). Une sélection de tests d'un kit comprenant 9 TDR était proposée en fonction du tableau clinique initial permettant une décision diagnostique et thérapeutique après calcul par l'outil des probabilités post-test en fonction des résultats des tests réalisés. Finalement 3) le diagnostic et la prise en charge finale étaient posés par le médecin du CSMI après avoir pris connaissance des résultats des TDR et du diagnostic proposé par l'outil le cas échéant (phase2).

L'utilité diagnostique du kit était évaluée par la différence entre les diagnostics et prise en charge initiaux (phase 1) et finaux (phase 2).

#### IV. Résultats et discussions

198 patients ont été inclus dans l'étude, l'âge médian était de 3,4 ans (IQR 1,4-11,2), le sexe ratio H/F était de 0,7 (82/116). L'utilisation du kit a modifié le diagnostic final dans plus de 40 % (N= 85/198) des cas. Les diagnostics de maladie fébrile sévère nécessitant une hospitalisation ont été multipliés par 4 (2% lors de la phase 1 vs 8% phase 3), de pyélonéphrite par 5 (1% vs 5%), d'otite moyenne aiguë par 3,5 (1% vs 3,5%), de dysenterie par 1,6 (3% vs 5%) et de pneumonie bactérienne par 1,3 (9 % vs 11,6%). Le paludisme représentait 4 % des fièvres, les cas de malnutrition aiguë sévère compliquée, non diagnostiqués lors de la consultation initiale, 1% des diagnostics finaux.

#### V. Impacts

Au total l'outil a permis d'identifier 7% (N= 14/198) de pathologies graves (maladie fébrile sévère ou MAS compliquée) nécessitant une hospitalisation, ce qui correspond à des patients qui seraient rentrés à domicile sans prise en charge appropriée en l'absence d'utilisation du kit diagnostique. Un examen clinique systématisé associé à une utilisation rationalisée de TDR permet une amélioration de la prise en charge des patients fébriles en centre de santé de base.

#### VI. Productions scientifiques

En cours

**ENISM 2014****Enquête Nationale sur l'Iode et le Sel à Madagascar**

Correspondant :  
**Rindra RANDREMANANA**

Email : [rrendrem@pasteur.mg](mailto:rrendrem@pasteur.mg)  
Tél : +261 20 22 412 72

**Date de rédaction**  
29/04/2016

Co-investigateur IPM

- **Alexandra BASTARAUD**, LHAE, [abastaraud@pasteur.mg](mailto:abastaraud@pasteur.mg)
- **Aina HARIMANANA**, unité d'épidémiologie, [aina@pasteur.mg](mailto:aina@pasteur.mg)
- **Frédérique RANDRIANIRINA**, CBC, [frederique@pasteur.mg](mailto:frederique@pasteur.mg)

**Lieux des travaux**  
90 Fokontany, Madagascar

**Budget total**  
157 311 \$

Co-investigateur hors IPM

- **Olivier RAZAFINIMANANA**, Service de Nutrition (SNUT), Ministère de la Santé
- **Lalaharizaka Andriantsarafara**, Office National de Nutrition

Date début : **01/09/2014**      Date fin : **31/07/2016**      Durée (mois) : **23**

Financements :  
**UNICEF**

Mots clés : **Statut en iode, sel, Madagascar**

## I. Contexte et justification

L'iode est un micronutriment essentiel pour la synthèse des hormones thyroïdiennes, lesquelles sont indispensables pour le développement du cerveau. La carence en iode provoque des troubles pouvant être graves qui sont regroupées sous le nom de « troubles dus à la carence en iode » (TDCI). Ces troubles incluent le goitre endémique, le retard de croissance linéaire et intellectuel, les avortements spontanés et la mortalité infantile. La carence en iode est une des premières causes de retard mental évitable dans le monde, les moyens de prévention consistant en la supplémentation en capsule d'iode, la promotion de la consommation d'aliments riche en iode et l'iodation du sel. Le sommet mondial de l'enfance qui s'est tenu à New-York en 1990, a reconnu l'importance de l'élimination de la carence en iode au niveau mondial. En 1993, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a affirmé que la stratégie principale pour atteindre cet objectif est l'iodation du sel. Au cours des dernières décennies, la majorité des pays dans le monde a adopté des textes législatifs et réglementaires rendant obligatoire l'iodation universelle du sel destiné à l'alimentation humaine et animale. Depuis, plusieurs indicateurs ont été utilisés pour évaluer l'impact de ces programmes au niveau de la population : la médiane de la concentration urinaire en iode et la proportion des ménages disposant de sel iodé et de sel adéquatement iodés (supérieur ou égal à 15 ppm d'iode).

A Madagascar, la stratégie d'iodation universelle du sel a été mise en œuvre à partir de février 1996. En plus de la législation, un suivi de la qualité du sel iodé a été mis en place. Il implique des contrôles de qualité internes, au niveau des sites de production, et externes menés par les districts sanitaires et les laboratoires de référence.

Depuis l'adoption de la stratégie d'iodation du sel, les enquêtes nationales réalisées depuis 1997 ont montré que la proportion de ménages disposant de sel iodé a été de 73% en 1997, 75% en 2003 et 72% en 2008, toujours en dessous du seuil recommandé par l'OMS qui est de 90%. En 2008, 53% des ménages disposant des sels iodés ont eu des sels avec une teneur en iode adéquate. Cependant aucune donnée représentative au niveau national sur le statut en iode de la population malagasy n'est disponible depuis le début de la mise en place du programme de lutte contre les TDCI.

## II. Objectifs

- Déterminer le statut en iode de la population malagasy
- Déterminer la disponibilité de sel adéquatement iodé au niveau des ménages
- Estimer la consommation de sodium dans un sous-échantillon d'individus

## III. Méthodes

Une étude transversale basée sur la technique de sondage stratifiée en grappes à deux degrés, avec probabilité proportionnelle à l'effectif de la population a été menée. Les strates au nombre de trois ont été délimitées en fonction de la disponibilité de sel adéquatement iodé lors de la dernière Enquête Démographique et de Santé. Les grappes constituées par les *Fokontany* (quartiers) ont été choisies de manière aléatoire et proportionnelle à l'effectif de la population par *Fokontany*. Les ménages dans les *Fokontany* ont été sélectionnés aléatoirement selon un pas de sondage calculé en fonction du nombre d'habitations dans le *Fokontany*. Toutes les femmes en âge de procréer de 15 à 49 ans, consentantes, enceintes ou non et résidant dans les ménages sélectionnés ont été incluses dans l'étude. Un échantillon d'urine de 25 ml a été demandé à chaque femme afin de déterminer la concentration urinaire en iode (CUI), la mesure a été réalisée par spectrophotométrie après digestion au persulfate d'ammonium. En même temps, la disponibilité du sel au niveau des ménages sélectionnés a été demandée et un échantillon de 30 à 50g de sel de cuisine a été collecté afin de mesurer leur teneur en iode par la méthode titrimétrique standard. Deux cent personnes dans les grappes et ménages sélectionnés ont fait l'objet de collecte d'urine de 24 heures qui a servi ensuite à évaluer la teneur de sodium, potassium et créatinine urinaire par la méthode de potentiométrie directe. Un questionnaire a été administré pour collecter les données sur les sujets inclus y compris les aliments consommés la veille de l'enquête, les caractéristiques de leurs ménages et des sels qu'ils utilisent pour l'alimentation (type de sel, lieu d'approvisionnement,...).

## IV. Résultats

Nous avons inclus 1733 femmes en âge de procréer appartenant à 1304 ménages et réparties dans 90 *Fokontany*. Les 1733 femmes ont appartenu à 1292 ménages, parmi ces ménages 88,2% (n=1140) ont fourni 1183 échantillons de 30 à 50 g de sel en vue de l'analyse de leur teneur en iode. Parmi ces 1183 échantillons de sels : 902 ont été des gros sels, 366 des sels fins et 5 des sels gemmes. Nous avons collecté 200 échantillons d'urine de 24 heures en vue des analyses de la concentration urinaire en sodium.

Des contrôles qualités des analyses sur les prélèvements d'urines et des sels sont en cours au niveau du Zürich Swiss Federal Institute of Technology LFV D19/20 ; 150 échantillons d'urines et autant d'échantillons de sels ont fait l'objet de ce contrôle qualité (50 par strates).

## V. Impacts

Cette étude permettra de disposer des données sur le statut en iode de la population à Madagascar après quelques années de mise en œuvre du programme de lutte contre les TDCI. Elle permettra également d'avoir quelques données de base sur le niveau de consommation de sodium dans un sous-échantillon de la population. Ces informations permettront d'identifier des axes d'intervention pour améliorer le programme d'iodation du sel à Madagascar.

**Entomo-Eval-Cases****Évaluation d'un nouveau produit insecticide, le chlorfenapyr, dans les cases pièges**

Correspondant :  
**Sébastien BOYER**

Email : [seboyer@pasteur.mg](mailto:seboyer@pasteur.mg)  
Tél : +261 20 22 401 64

**Date de rédaction**  
31/08/16

Co-investigateurs IPM

**Lieux des travaux**  
Moramanga

- **Sanjarizaha RANDRIAMAHERIJAONA**, Unité Entomologie Médicale,  
[sanji@pasteur.mg](mailto:sanji@pasteur.mg)

**Budget total**  
17 267,04 €

Date début : **01/10/2014**      Date fin : **31/08/2016**      Durée (mois) : **12**

Financements :  
**BASF**

Mots clés : **Cases pièges, chlorfenapyr, vecteurs, pulvérisation intra-domiciliaire, Madagascar**

## I. Contexte et justification

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande au Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP) une rotation d'insecticide pendant les pulvérisations intra-domiciliaires (PIDs) tous les 3 ans. Cette méthode permet d'éviter l'acquisition rapide des mécanismes de résistance aux insecticides.

Sur les Hautes Terres Centrales (HTC) de Madagascar, la PID utilisant le DDT (organochloré) a été initiée par le PNLN depuis 1949 jusqu'en 2004. Entre 2005 et 2009, l'alphacyperméthrine, un pyréthrianoïde choisi pour son efficacité et sa rémanence de 4 à 6 mois, a été utilisé dans les campagnes d'aspersion intra-domiciliaires d'insecticides sur les HTC. Depuis 2010, l'alphacyperméthrine a été remplacée par du bendiocarbe dans les zones couvertes par les moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée (MIILDs). L'objectif principal de ce projet scientifique est de déterminer la persistance d'un insecticide particulier qui pourrait être un candidat pour les prochaines années : le chlorfenapyr. Il appartient à la classe chimique des pyrroles et agit en perturbant la production d'ATP (Adenosine Triphosphate) par phosphorylation oxydative dans les mitochondries des cellules des moustiques. Le chlorfenapyr facilite la perte de proton de l'intérieur vers l'extérieur de la mitochondrie. Couplées à une source d'énergie protonique, les mitochondries ne sont pas capables de générer de l'ATP et les cellules cessent de fonctionner. Le chlorfenapyr est un pro-insecticide qui est activé par des monooxygénases à cytochrome P450 en son métabolite plus actif. La mortalité est maximisée à 48 heures et à 72 heures après l'exposition.

## II. Objectifs

- Déterminer la rémanence et l'activité résiduelle du chlorfenapyr.
- Évaluer l'efficacité du chlorfenapyr en milieu naturel semi-contrôlé (cases pièges), en déterminant l'effet léthal, l'effet dissuasif, l'effet d'inhibition et l'effet d'expulsion de l'insecticide.

### III. Matériels et Méthodes

- Sites d'études : Stations expérimentales de Saharevo et d'Ambohitranivo dans le district de Moramanga qui se trouve sur une zone de transition entre la Côte-Est et les HTC de Madagascar. Trois espèces d'anophèles vectrices : *An. arabiensis*, *An. gambiae* s.s. et *An. mascarensis* sont présents dans ces deux sites. Des cases représentant les différents types d'habitat trouvés à Madagascar (case en brique, en bois, en tôle, en torchis et en matière végétale ou « falafa ») ont été construites en double dans chaque station, l'une pour recevoir le traitement, l'autre comme témoin.
- Moustiques utilisés pour les tests en cônes : une souche de laboratoire : *Anopheles arabiensis*.
- Capture mensuelle dans les cases pièges : les moustiques capturés sont enregistrés selon leur état (morts/vivants et gorgés/non-gorgés) et leur lieu de capture (intérieur/extérieur).
- Tests en cônes mensuels selon le standard OMS: effectués dans les cases pièges.

### IV. Résultats et discussions

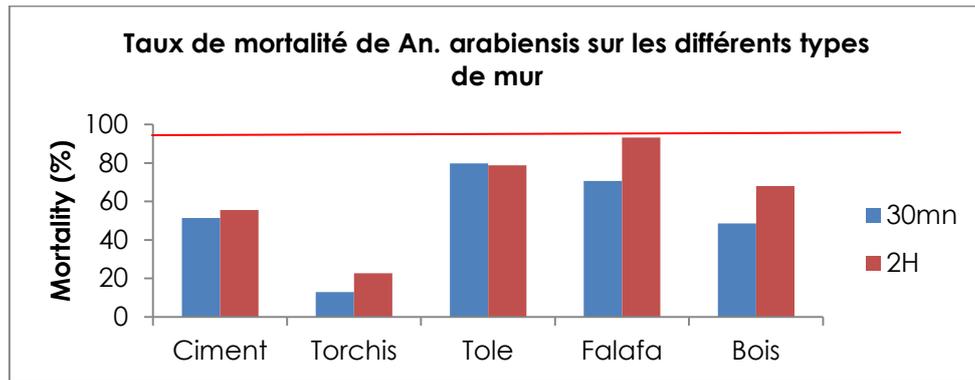
En novembre 2015, pendant la période pré-traitement : à Ambohitranivo, un total de 98 moustiques a été capturé pendant les 8 nuits de captures. Le taux de gorgement était de 24,5% (24/98). La mortalité naturelle après 72h était de 33,7% (33/98) et le taux d'exophilie naturelle de 46,9% (46/98).

A Saharevo, un total de 140 moustiques a été capturé durant les 8 nuits de captures. Le taux de gorgement était de 18,6% (26/140). La mortalité naturelle observée après 72h était de 43,6% (61/140) et l'exophilie naturelle était de 40,0% (56/140).

Le résultat des tests en cônes effectués sur les murs pendant la période pré-traitement montraient une mortalité inférieure à 2%, vérifiant la non-contamination des murs.

En décembre 2015, 250 mg/m<sup>2</sup> de chlorfenapyr ont été pulvérisés sur les murs des cases pièges. Les résultats de captures à Ambohitranivo ont permis de capturer 225 moustiques pendant les 8 nuits de captures. Beaucoup plus de moustiques ont été capturés dans les cases traitées (65,8%) que dans les cases non-traitées (34,2%). Dans les cases traitées, le taux de gorgement était de 13,5% (20/148). La mortalité induite par la présence d'insecticide après 72h d'exposition était de 83,8% (124/148) et l'exophilie induite était de 50,7% (75/148). A Saharevo, un total de 77 moustiques a été capture pendant le premier mois post-traitement. Plus de moustiques ont été capturés dans les cases non-traitées (53,3%) que dans les cases traitées (46,7%). Dans les cases traitées, le taux de gorgement des moustiques était de 11,1% (4/36) et le taux de mortalité observé après 72h était de 97,2% (35/36). Le taux d'exophilie induite était de 13,9% (5/36).

Concernant les tests en cônes sur les murs traités, la mortalité dans toutes les cases non-traitées était inférieure à 5%. Dans les cases traitées, la mortalité atteint le seuil d'efficacité de 80 % (seuil d'efficacité défini par l'OMS) sur le mur en matière végétal (« falafa ») quand les moustiques sont exposés pendant 2h. La figure ci-après montre le taux de mortalité selon les différents types de murs.



## V. Impacts

Cette étude menée en condition semi-naturelle contrôlée selon la méthodologie des essais de phase II du protocole WHOPES, permettra de vérifier l'efficacité du chlorfenapyr insecticide candidat pour les campagnes de PID à Madagascar et d'évaluer sa rémanence sur différents matériaux, informations utiles à l'élaboration des stratégies de lutte et au choix des méthodes. Par ailleurs, ce dispositif permettra d'étudier les comportements des moustiques, en particulier les comportements d'évitement qui peuvent leur servir à résister aux insecticides.

**Entomo-FleaPop****Structure génétique des populations de *Xenopsylla cheopis* à Madagascar et à Mayotte**

Correspondant :  
**Mireille HARIMALALA**

Email : [hmireille@pasteur.mg](mailto:hmireille@pasteur.mg)

Tél : +261 20 22 401 64

**Sébastien BOYER**

Email : [seboyer@pasteur.mg](mailto:seboyer@pasteur.mg)

Tél : +261 20 22 401 64

**Date de rédaction**

1/01/2016

**Lieux des travaux**

Madagascar et Mayotte

Co-investigateurs IPM

- **Sandra TELFER**, Unité Peste IPM – University of Aberdeen

Date début : **janv. 2015**

Date fin : **Déc. 2015**

Durée (mois) : **12**

Financements :

**Agence Régionale pour la Santé de l'Océan Indien (ARS-OI)**

Mots clés : ***Xenopsylla cheopis*, Madagascar, Mayotte, génétique des populations, microsatellites**

## I. Contexte général

La peste est une maladie endémique à Madagascar où des centaines de cas sont reportés chaque année. Mais cette maladie n'est pas reportée dans les îles voisines. Toutefois, étant donné que Madagascar effectue un important échange avec ses îles voisines notamment Mayotte et les Comores, la question sur le risque d'introduction de la peste est posée. Des analyses en génétique des populations sur les puces vectrices permettront d'avoir des informations sur les flux de gènes entre ces pays et par conséquent d'estimer le risque d'introduction de la peste.

## II. Objectifs

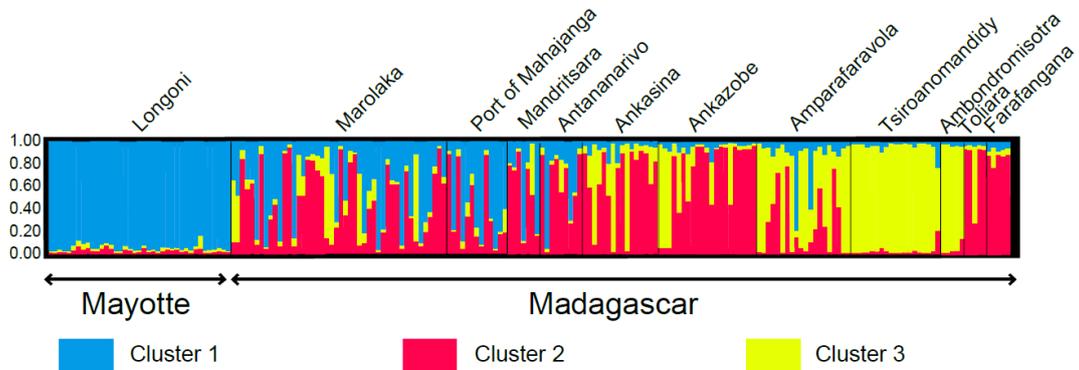
Les objectifs sont d'étudier la génétique des populations de *X. cheopis* à Madagascar et d'évaluer le risque d'introduction de la peste notamment à Mayotte.

## III. Méthodologie

Des missions sur terrain en saison sèche et en saison des pluies ont été effectuées dans les ports et villages de la région de Mahajanga (Madagascar) et de Longoni (Mayotte). Ces missions ont consisté à collecter et à identifier les spécimens de puces et leurs hôtes micromammifères, en collaboration avec l'Unité Peste (IPM). L'approche adoptée pour la suite de l'étude a été l'utilisation des outils microsatellites associés avec des analyses en génétique des populations sur les puces pour permettre de déterminer s'il y a échange génétique entre les populations de puces venant des deux îles.

#### IV. Résultats et discussions

Nos résultats ont montré que trois groupes génétiques de puces existent à Madagascar et à Mayotte : les groupes ou clusters I, II et III. Le groupe génétique I est trouvé à Mayotte tandis que tous les trois groupes existent à Madagascar.



Aussi, un pattern d'invasion de population se dessine : le groupe I semble être en train de se propager dans les régions de Madagascar.

Ces résultats suggèrent également qu'il y a un risque potentiel d'introduction de la peste à Mayotte avec la présence sur place de réservoirs potentiels et de vecteurs. D'ailleurs le fait que la puce vectrice y existe et qu'il y a échange entre les deux îles constitue un risque à ne pas négliger.

**Entomo-Maldi****Mise en place de MALDI-TOF, outil d'identification en Entomologie Médicale**

Correspondant :

**Fara N. Raharimalala**Email : [rfaranantenaina@pasteur.mg](mailto:rfaranantenaina@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 401 64****Date de rédaction**

1/01/2016

**Lieux des travaux**Unité d'Entomologie Médicale,  
Unité de Bactériologies Expérimentales

Co-investigateurs IPM

- **Jean-Marc COLLARD**, unité de Bactériologies expérimentales,  
[jmcollard@pasteur.mg](mailto:jmcollard@pasteur.mg)- **Sébastien BOYER**, unité d'Entomologie Médicale, [sboyer@pasteur.mg](mailto:sboyer@pasteur.mg)Date début : **1/07/2015**Date fin : **31/12/2015**Durée (mois) : **06**

Financements :

**Projet interne IPM**Mots clés : **vecteurs, malaria, MALDI-TOF MS, identification**

## I. Contexte et justification

En entomologie, l'identification traditionnelle des insectes se fait principalement en étudiant leurs aspects morphologiques (macro- ou microscopiquement), mais celle-ci requiert l'utilisation de plusieurs clés d'identifications qui ne sont pas toujours complètes à cause de la présence d'espèces cryptiques non identifiables extérieurement et d'une solide connaissance en systématique. L'arrivée des méthodes moléculaires ont permis de résoudre ce problème. Malgré son efficacité, cette dernière méthode peut-être d'un coût financier plus cher. Récemment, la nouvelle méthode basée sur la spectrométrie de masse pour l'identification rapide des différents pathogènes a été mise en place dans les différents domaines de la recherche. A Madagascar, le spectromètre MALDI-TOF MS est surtout utilisé pour l'identification en bactériologie et microbiologie. Notre challenge est de le mettre en place pour la partie entomologie, qui en est encore à ses débuts au niveau international.

## II. Objectifs

- Mettre en place une méthode alternative d'identification d'insectes, qui pourra être utilisée seule ou combinée avec les méthodes conventionnelles,
- Créer une base de données qui servira de fondement à cette nouvelle méthode.

## III. Méthodes

### • Extraction des protéines

Des pattes de moustique sont broyées dans de l'Acide formique et d'Acétonitrile, puis déposées sur la cible et recouvert par la matrice.

### • Création de base de données sur MALDI-TOF MS

Chaque échantillon est déposé 8 fois sur la cible. Chaque dépôt est ensuite tiré 3 fois par le laser. Un ensemble de 24 spectres sont ainsi obtenus. Après traitement et analyse des spectres, un seul spectre, qui constitue la moyenne des 24, est obtenu. La banque de données est créée à partir de ce spectre.

#### • Test d'efficacité de la base de données

Des tests en aveugle sont faits pour vérifier que la base de données créée est fiable. Pour cela, des lectures en aveugle des échantillons de moustiques sont identifiées sur MALDI-TOF MS.

## IV. Résultats et discussions

Nous avons testé des espèces sauvages provenant directement du terrain et de laboratoire, et qui ont été confirmées par l'identification morphologique et moléculaire pour les complexes d'espèces.

MALDI-TOF MS permet d'identifier clairement les espèces même au niveau des complexes d'espèces (cas d'*Anopheles gambiae* s.l.) (Figure 1). La base de données qui servira de bio-banque pour l'IPM a été créée. Il a été possible d'identifier, sans ambiguïtés, les espèces vectrices, sauvages ou en élevage au laboratoire.

L'analyse du dendrogramme des 7 espèces de terrains ont démontré aussi la formation de cluster (Figure 2) entre les différentes espèces étudiées. La comparaison des données moléculaires avec les clusters obtenus confirment bien que MALDI-TOF MS peut être utilisée comme outil d'identification fiable des moustiques contenu dans les bases de données créées.

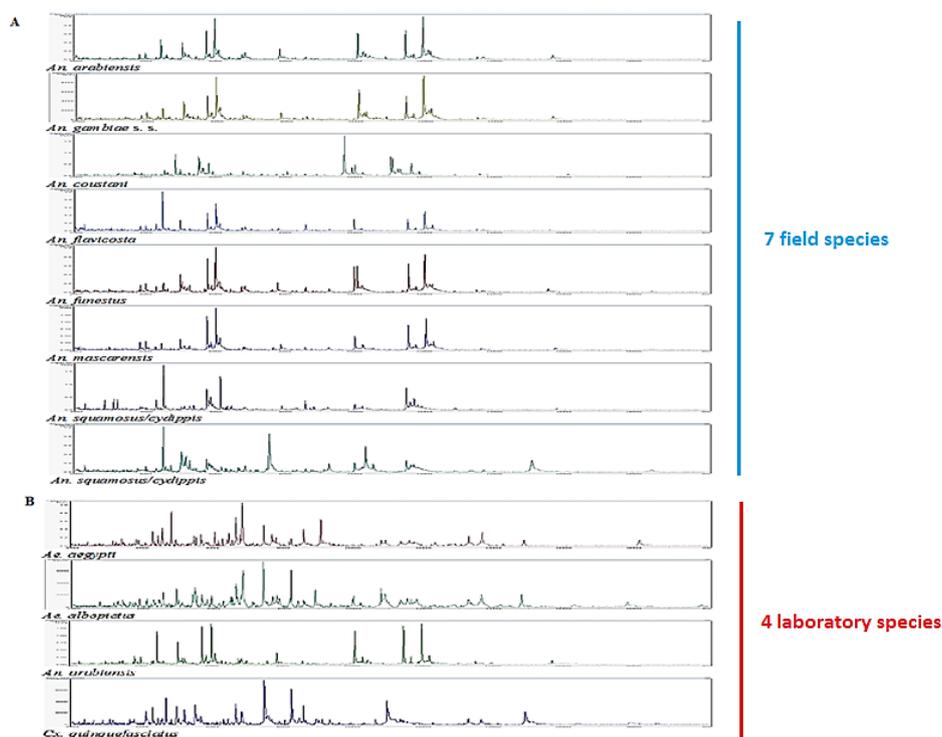
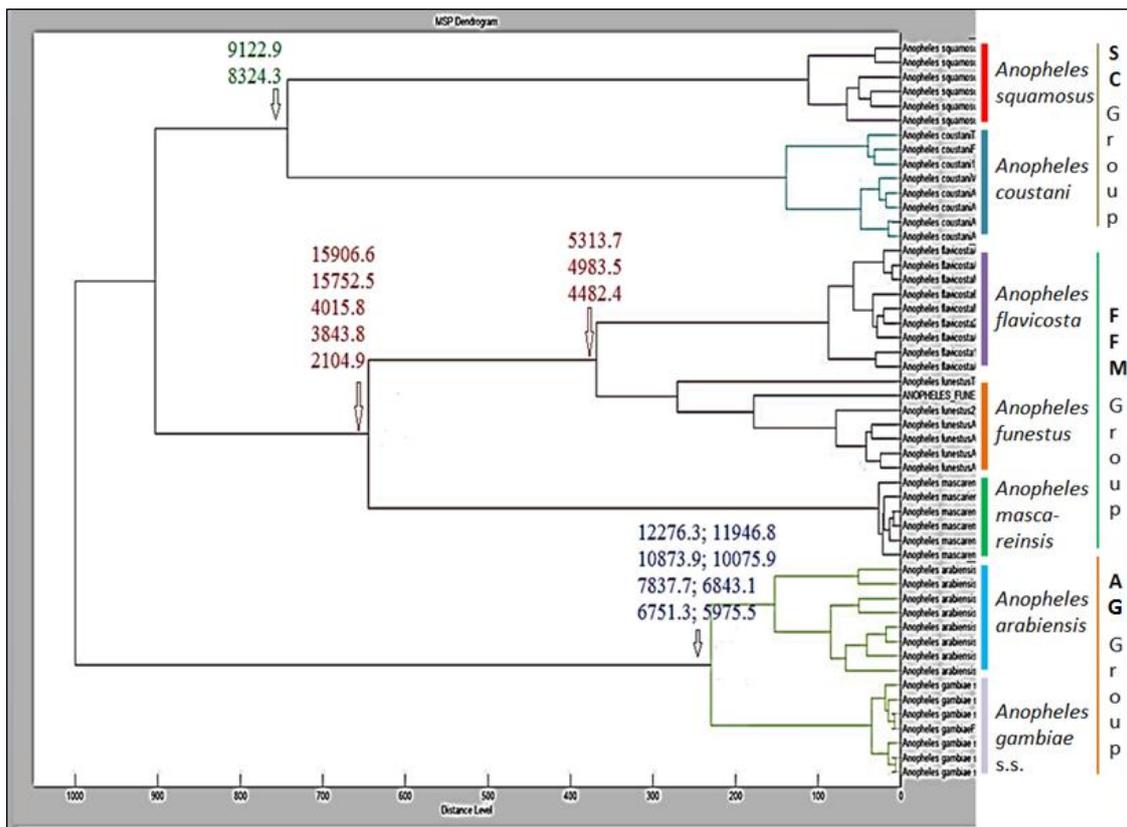


Figure 1 : Spectres des 10 espèces étudiées. Chaque spectre représente une espèce bien définie.



**Figure 2 : Dendrogramme représentant les 7 espèces de terrains avec les clusters formés: groupe SC : cluster d'*Anopheles squamosus* avec *An. coustani* ; groupe FFM : cluster *An. flavicosta*, *An. funestus* et *An. mascarensis* ; groupe AG : cluster *An. arabiensis* avec *An. gambiae* s.s.**

Avec MALDI-TOF MS, nous avons pu mettre en évidence aussi que les espèces en élevage en laboratoire perdent de leurs spécificités génétiques au fur et à mesure du temps d'élevage. L'utilisation de MALDI-TOF MS comme outil d'identification des moustiques vecteurs a été mise en place pour la première fois à Madagascar.

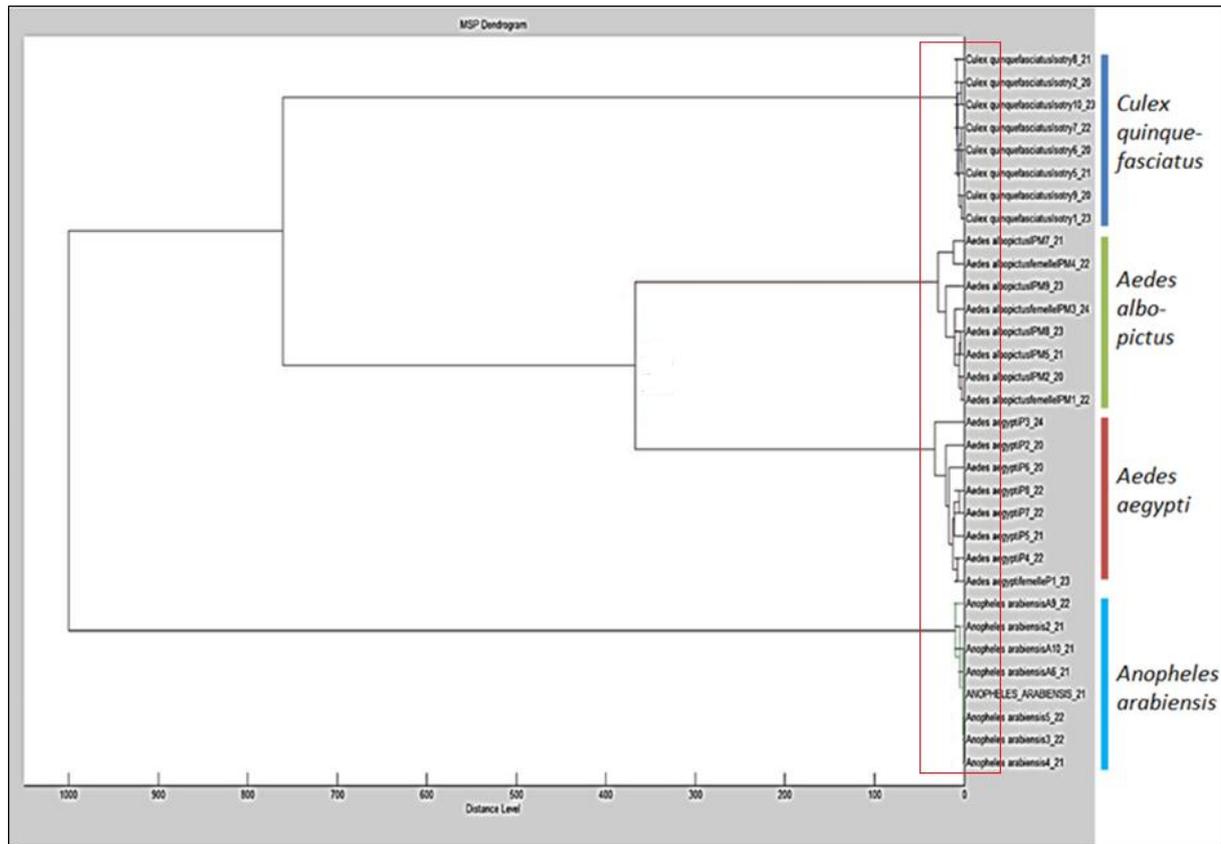


Figure 3 : Dendrogramme des 4 espèces de laboratoires. Le carré rouge démontre la grande perte de spécificité des protéines

## V. Impacts

La mise en place de la méthode MALDI-TOF MS a permis à l'Unité de créer une nouvelle méthode alternative de celles utilisées d'habitude et de comparer l'efficacité et spécificité de MALDI-TOF MS. La perspective d'avenir est actuellement d'approfondir notre connaissance vis-à-vis des biomarqueurs qui correspondent à des poids moléculaires de protéines et qui sont spécifiques des différentes espèces étudiées et de pouvoir définir ainsi les rôles exacts qu'ils jouent chez chaque espèce.

**Entomo-Phylo-Flea****Diversité d'espèces et analyses phylogénétiques des puces de forêts dans les Hauts-Plateaux de Madagascar**

Correspondant :

**Mireille HARIMALALA**Email : [hmireille@pasteur.mg](mailto:hmireille@pasteur.mg)

Tél : +261 20 22 401 64

**Sébastien BOYER**Email : [seboyer@pasteur.mg](mailto:seboyer@pasteur.mg)

Tél : +261 20 22 401 64

Co-investigateur IPM

- **Tojo Ramihangihajason**, Unité d'Entomologie Médicale, [tojour@pasteur.mg](mailto:tojour@pasteur.mg)- **Adélaïde MIARINJARA**, Unité d'Entomologie Médicale, [amiarinjara@pasteur.mg](mailto:amiarinjara@pasteur.mg)Date début : **1/07/2015**Date fin : **31/12/2015**Durée (mois) : **06**

Financements :

**Agence Régionale pour la Santé de l'Océan Indien (ARS-OI)**Mots clés : **puces de forêts, Hauts-Plateaux, Madagascar****Date de rédaction**

1/01/2016

**Lieux des travaux**Hauts-Plateaux de  
Madagascar

## I. Contexte général

La peste (et son cycle de transmission) est surtout connue par la transmission de la bactérie pathogène *Yersinia pestis* par les puces vectrices comme *Xenopsylla cheopis* du rat vers l'homme. Le cycle de la maladie impliquant ces puces vectrices connues se passe à proximité des habitations humaines. Toutefois, l'implication des puces et micromammifères des forêts dans la peste n'est pas à exclure. Par conséquent, il est important d'identifier les différentes espèces de puces dans ces forêts et ultérieurement de déterminer leur possible implication dans le cycle selvatique de la peste.

## II. Objectifs

Cette étude a tout d'abord été effectuée dans le but de déterminer les différentes espèces de puces présentes dans les forêts des Hauts-Plateaux de Madagascar où il y a un important endémisme tant sur les micromammifères que sur les puces. Ensuite, l'objectif est de déterminer les liens phylogénétiques existant entre les différentes espèces de puces.

## III. Méthodes

Pour ce faire, des missions de capture de micromammifères et puces ont été effectuées dans trois sites choisis se trouvant dans les forêts des Hauts-Plateaux :

- Anorana, localisé dans le district d'Anjozorobe, à la limite de la partie nord-est des Hauts-Plateaux. Le site se trouve dans une forêt tropicale humide du corridor Anjozorobe – Angavo (48°00'54.38"E ; 18°18'15.35"S; alt. 1300m).

- Ankazomivady, localisé au sud-ouest d'Ambositra, un district de la partie sud des Hauts-Plateaux. Le site se trouve dans la forêt humide montagneuse d'Ankazomivady (47°09.7'E ; 20°46.8'S; alt.1680m).
- Lakato, localisé dans le district de Moramanga situé entre les Hauts-Plateaux centraux et la côte Est. Le site se trouve dans la limite Est de la forêt de montagne (48°20'55.04"E; 19°02'38.95"S; alt. 1007m).
- L'identification des différentes espèces de puces a été effectuée en utilisant la clé d'identification morphologique de Duchemin (Duchemin, 2003).

L'étude sur la phylogénie des puces a été effectuée selon la méthodologie suivante :

- 1) extraction d'ADN,
- 2) PCR utilisant les amorces ciblant les gènes mitochondriaux COII, 12S et 16S et le gène nucléaire ITS2,
- 3) séquençage d'ADN et
- 4) analyses phylogénétiques des séquences nucléotidiques.

#### IV. Résultats et discussions

On a identifié 15 espèces de puces appartenant à 6 genres et 4 familles. La plupart de ces espèces sont endémiques (Tableau 1).

**Tableau 2 : Liste des espèces de puces forestières identifiées dans les forêts des Hauts-Plateaux de Madagascar**

Family names	Subfamily names	Genera names	species names	Descriptor	Distribution	Species inventory per site		
						Anorana	Ankazomivady	Lakato
Pulicidae	Archaeopsyllinae	<i>Centetipsylla</i>	<i>madagascariensis</i>	Rothschild, 1900	endemic	-	+	+
	Xenopsyllinae	<i>Synopsyllus</i>	<i>fonquerniei</i>	Wagner and Roubaud, 1932	endemic	+	+	+
		<i>Synopsyllus</i>	<i>estradei</i>	Klein, 1964	endemic	+	+	-
		<i>Synopsyllus</i>	<i>robici</i>	Klein, 1966	endemic	-	+	-
Leptopsyllidae	Leptopsyllinae	<i>Paractenopsyllus</i>	<i>vaucei</i>	Klein, 1965	endemic	+	+	-
		<i>Paractenopsyllus</i>	<i>petiti</i>	Klein, 1965	endemic	+	+	+
		<i>Paractenopsyllus</i>	<i>viettei</i>	Klein, 1965	endemic	-	+	-
		<i>Paractenopsyllus</i>	<i>grandidieri</i>	Klein, 1965	endemic	+	+	-
		<i>Paractenopsyllus</i>	<i>goodmani</i>	Duchemin, 2003	endemic	+	-	-
		<i>Paractenopsyllus</i>	<i>rouxi</i>	Duchemin, 2004	endemic	-	+	-
		<i>Paractenopsyllus</i>	<i>raxworthyi</i>	Duchemin and Ratovonjato, 2004	endemic	-	+	-
		<i>Tsaractenus</i>	<i>rodhaini</i>	Duchemin, 2003	endemic	+	-	-
Ischnopsyllidae	Ischnopsyllinae	<i>Lagaropsylla</i>	<i>idaea</i>	Smit, 1957	afrotropical	-	-	+
Ctenophthalmidae	Dinopsyllinae	<i>Dinopsyllus</i>	<i>brachypecten</i>	Smit, 1951	endemic	+	+	-
		<i>Dinopsyllus</i>	<i>flacourti</i>	Klein, 1966	endemic	-	+	-

+ : présence / - : absence dans les sites

Cette étude a permis de déterminer la relation phylogénétique entre les différentes espèces de puces Malagasy et leur lien de parenté avec les puces mondiales (Figures 1 et 2). Parmi les 4 familles identifiées, seule la famille *Pulicidae* est monophylétique et les 3 autres restantes sont paraphylétiques. L'espèce *Synopsyllus fonquerniei* est plus proche génétiquement de l'espèce *S. girardi* (non identifiée lors de cette étude) que de *S. estradei*. Les espèces de *Paractenopsyllus* et l'espèce *Tsaractenus rodhaini* forment des groupes sœurs. Ensuite, la position des espèces de *Dinopsyllus* dans les arbres phylogénétiques varient en fonction des amorces utilisées.

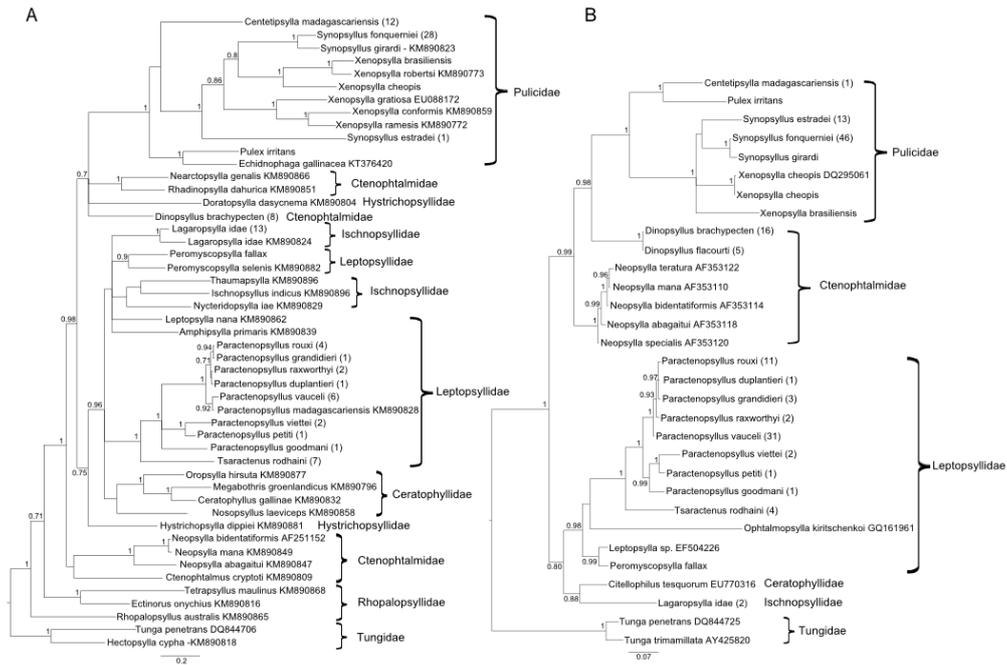


Figure 1 : Arbres phylogénétiques montrant la relation entre les différentes espèces de puces et en utilisant les marqueurs COII (A) et ITS2 (B).

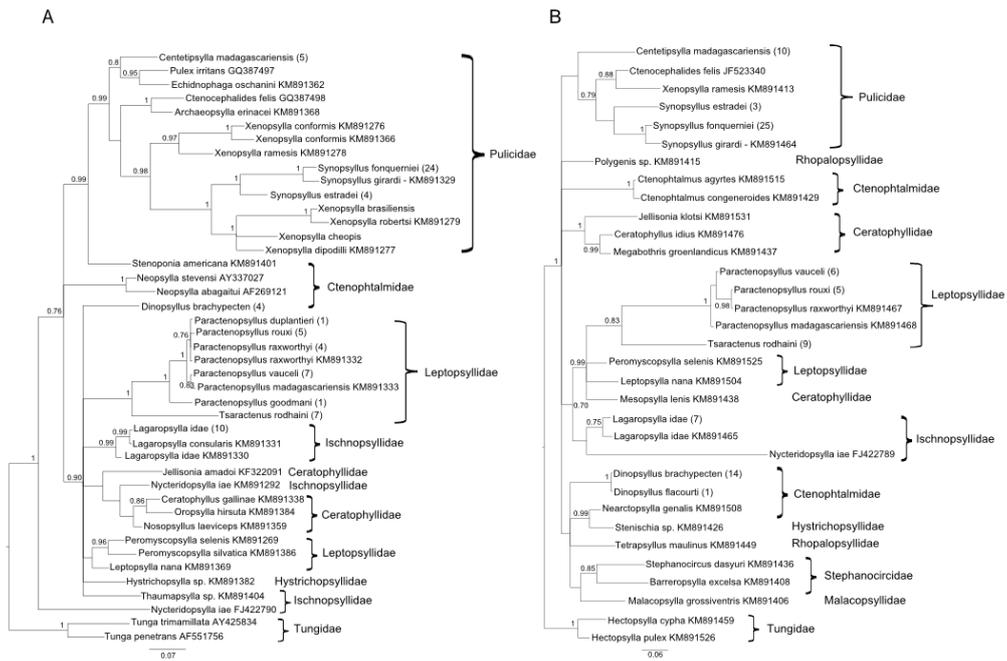


Figure 2 : Arbres phylogénétiques montrant la relation entre les différentes espèces de puces et en utilisant les marqueurs 16S (A) et 12S (B).

**Entomo-Rift**

Étude en laboratoire de la compétence vectorielle pour le virus de la fièvre de la vallée du Rift et de la biologie de *Culex antennatus*, *Anopheles squamosus* et *Anopheles coustani* (Culicidae) de Madagascar

Correspondant :  
**Fara N. Raharimalala**

Email : [rfaranantenaina@pasteur.mg](mailto:rfaranantenaina@pasteur.mg)  
Tél : +261 20 22 401 64

Date de rédaction  
1/01/2016

Co-investigateurs IPM

- **Jean-Michel HERAUD**, unité de Virologie [jmheraud@pasteur.mg](mailto:jmheraud@pasteur.mg)

- **Sébastien BOYER**, unité d'Entomologie Médicale, [sboyer@pasteur.mg](mailto:sboyer@pasteur.mg)

- **Thiery N.J.NEPOMICENE**, unité Entomologie Médicale, [Jthiery@pasteur.mg](mailto:Jthiery@pasteur.mg)

Date début : **1/07/2012** Date fin : **31/07/2015** Durée (mois) : **36**

Financements :

**Projet interne IPM**

Mots clés : **Arbovirus, RVF, compétence vectorielle, vecteurs**

Lieux des travaux  
Unité virologie, Unité entomologie médicale

Budget total  
7 950 €

## I. Contexte et justification

L'existence d'une émergence et/ou de réémergence d'arboviroses dans les îles de l'Océan Indien a marqué ces dix dernières années. Madagascar n'a pas fait exception à la règle puisque des foyers épidémiques d'arboviroses de grande envergure ont été signalés dans plusieurs régions de l'île. Avec plus de vingt millions d'habitants, des mouvements croissants de populations, et des changements climatiques évidents, Madagascar peut devenir rapidement un «hot spot» de maladies vectorielles. Dans ce contexte, il est primordial d'actualiser et d'approfondir les connaissances sur la biologie des vecteurs principaux d'arboviroses. En 2008-2009, Madagascar a été victime d'une épidémie de la Fièvre de la Vallée du Rift (FVR). C'est une arbovirose enzootique. Outre le fait qu'elle peut entraîner d'importantes pertes animales, il s'agit aussi d'une zoonose potentiellement mortelle pour l'homme. Des études ont démontré l'infection de *Culex antennatus*, *Anopheles squamosus* et *Anopheles coustani* par le virus de la Fièvre de la Vallée du Rift (VFVR) (Ratovonjato et al, 2010) lors des investigations entomologiques menées par l'équipe d'entomologie de l'IPM durant l'épidémie. Peu d'information sont disponible sur ces trois espèces ainsi que leur biologie et leur compétence vectorielle. Il est donc justifié d'apporter une attention particulière sur ces trois espèces qui pourraient jouer un rôle majeur dans la transmission du VFVR à Madagascar.

## II. Objectifs

- Étudier la compétence vectorielle de ces trois espèces vis-à-vis du VFVR
- Connaître leur biologie en condition de laboratoire
- Statuer sur le rôle qu'ils pourraient jouer dans la transmission de ce virus à Madagascar

### III. Méthodes

#### • Capture des moustiques sur le terrain

Des moustiques femelles adultes, gorgées ont été capturées sur plusieurs sites : à Antananarivo ville et dans les alentours (Alasora, Ivato aéroport) ainsi qu'à Moramanga. Les femelles ont ensuite été mises à pondre en laboratoire, puis les tests de gorgements infectieux furent menés sur les générations F1 dans le laboratoire de niveau de sécurité 3.

#### • Titrage viral

En préambule des infestations expérimentales, le titre viral de notre échantillon était nécessaire. La technique de titrage utilisée était « la technique de clonage en plaque de lyse sous agarose » (Mode opératoire disponible à l'unité de virologie).

#### • Infestation des souches

Des tests de gorgement artificiel de lots monospécifiques de chaque espèce étudiée avec du sang infecté par le VFVR qui ont été isolés de nos moustiques, ont été mis en place (Moutailler et al., 2007). L'infection a été procédée sur femelles âgées de 5 à 7 jours et à jeun 24h pour les conditionner aux repas artificiels. Après 30 min de gorgement, les moustiques femelles entièrement gorgées sont mises dans une cage maintenue à  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , puis nourries avec 10% d'eau sucrée pendant 14 jours.

#### • Détection de la présence du virus par la RT-PCR

La présence du virus dans les femelles infectées a été testée par RT-PCR à différents jours : J1, J2, J5, J8, J11 et J14.

#### • Détection de la présence du virus par culture sur cellule Vero6:

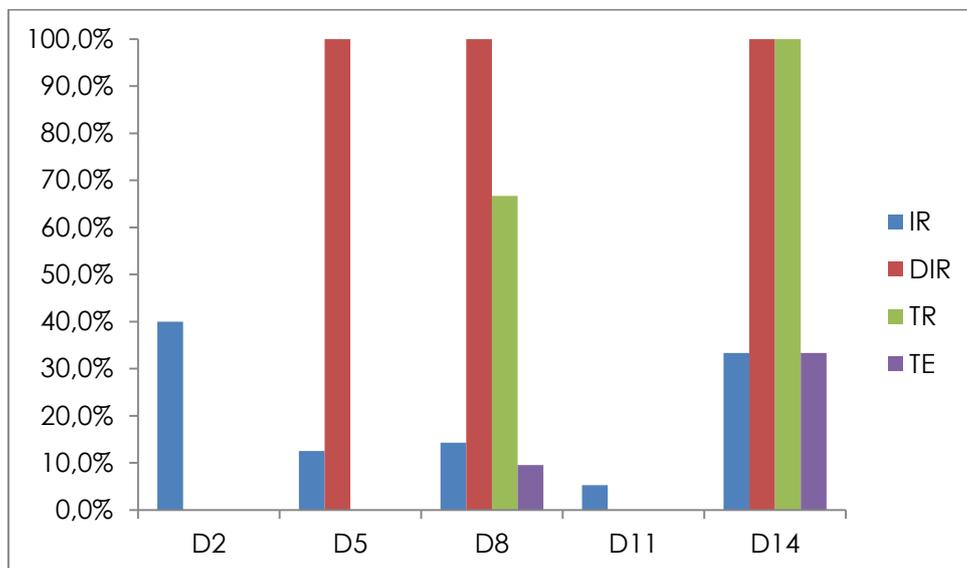
- Technique de broyage des moustiques et de culture sur cellules VeroE6. Les femelles présumées infectées ont été broyées individuellement. Le surnageant de broyage a été inoculé sur une culture de cellules VeroE6 pour tester leur infectivité.
- Technique de salivation des moustiques (Remoue, 2006). Les femelles de moustiques ont été endormies puis les pattes et les ailes ont été coupées. On fait saliver le moustique dans un embout de pipette préalablement fixé sur une lame par un adhésif, contenant 10 $\mu$ l de milieu L15 de Leibovitz + 10% SVF (sérum de veau fœtal). Après 1 h de salivation, le mélange de salive-milieu L15 est étalé sur cellule Vero6.

#### • Détermination de la diffusion et de la transmission du virus dans les moustiques infectés

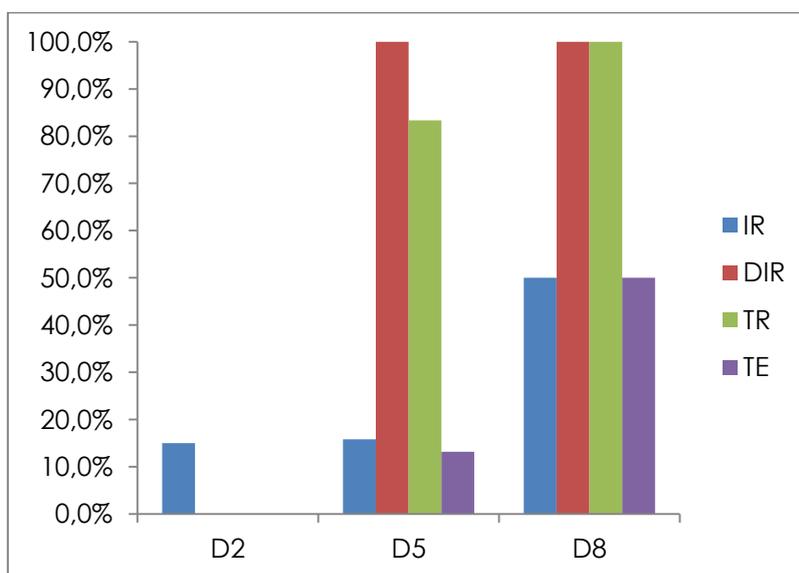
Quatre paramètres ont été étudiés pour suivre la dissémination du virus chez les moustiques infectés. Tels : (a) IR ou taux d'infection qui correspond à la proportion d'abdomens de moustiques trouvés infectés chez les moustiques testés ; (b) DIR : Taux de dissémination de l'infection qui correspond à la dissémination de l'infection dans la tête et le thorax des individus trouvés positifs avec l'abdomen ; (c) TR : Taux de transmission qui correspond à la proportion d'individus avec de la salive infectieuse ; (d) TE : Efficacité de la transmission qui correspond à la proportion d'individus avec de la salive infectieuse parmi le nombre total de moustiques testés.

### IV. Résultats et discussions

Nous n'avons pu avoir des résultats pour *An. squamosus* dont l'élevage au laboratoire es difficile. L'infection expérimentale a été réalisée avec *An. coustani* (figure 1) et *Cx. antennatus* (figure 2).



**Figure 1 : Histogramme de dissémination d'infection du VFVR chez *An. coustani* : Pourcentage de moustique trouvé infecté par le VFVR. IR : Taux d'infection ; DIR : Taux de dissémination de l'infection, TR : Taux de transmission ; TE : Efficacité de la transmission**



**Figure 2 : Histogramme de dissémination d'infection du VFVR chez *Cx. Antennatus*. IR : Taux d'infection ; DIR : Taux de dissémination de l'infection, TR : Taux de transmission ; TE : Efficacité de la transmission**

Le VFVR a été détecté dans plusieurs compartiments du corps des deux espèces étudiées (tête/thorax, ailles, pattes, salive). Même si le pourcentage du taux de dissémination a été assez faible, 8 % pour *Cx. antennatus* sur 46 femelles gorgées et 5.3 % pour *An. coustani* sur 86 femelles, compte tenu du nombre très élevé de ces deux espèces dans la nature, elles pourraient très bien constituer de très bons vecteurs pour le VFVR en cas d'épidémie. Il serait donc très prudent de porter une attention sur ces deux espèces.

## V. Impacts

La connaissance de la compétence vectorielle d'un vecteur donné, trouvé infecté dans la nature permet de proposer efficacement le type de lutte adéquate à chaque type de vecteur et de répondre efficacement à la prise en charge de la Santé publique.

**ETIOFEB****Etiologies des fièvres à Madagascar**

Correspondant :

**Patrice PIOLA**Email : [ppiola@pasteur.mg](mailto:ppiola@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72****Date de rédaction**

04/02/2016

**Lieux des travaux**

Madagascar

**Budget total**

143 605 €

Co-investigateurs de l'IPM

- **Jean-Michel HERAUD**, unité de virologie, [jmheraud@pasteur.mg](mailto:jmheraud@pasteur.mg)- **Julia GUILLEBAUD**, unité de virologie, [gjulia@pasteur.mg](mailto:gjulia@pasteur.mg)- **Laurence RANDRIANASOLO**, unité d'épidémiologie, [laurence@pasteur.mg](mailto:laurence@pasteur.mg)- **Léa RANDRIAMAMPIONONA**, unité d'épidémiologie, [leabricette@pasteur.mg](mailto:leabricette@pasteur.mg)- **Benoît GARIN**, unité de bactériologie expérimentale, [bgarin@pasteur.mg](mailto:bgarin@pasteur.mg)- **Milijaona RANDRIANARIVELOJOSIA**, unité paludisme, [milijaon@pasteur.mg](mailto:milijaon@pasteur.mg)

Co-investigateur hors IPM

**Unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses et Tropicales Emergentes (URMITE)**, Marseille, FranceDate début : **1/10/2013**Date fin : **31/09/2015**Durée (mois) : **23**

Financements :

**USAID (AID-687-G-13-00003)**Mots clés : **Fièvres, étiologies, Madagascar****I. Contexte et justification**

Les analyses de laboratoire restant encore limitées dans la plupart des régions de Madagascar, les cliniciens et agents de santé ont peu d'outils pour établir un diagnostic étiologique. Par conséquent, la prise en charge des patients est souvent conduite par des guides basés uniquement sur des syndromes généraux, et une approche empirique en termes de traitement.

Un réseau de surveillance sentinelle des fièvres est en place à Madagascar depuis 2007, et couvre l'ensemble du territoire. Les maladies à potentiel épidémique sous surveillance sont le paludisme, les syndromes grippaux, les diarrhées, et les syndromes Dengue-like. Seul le paludisme est confirmé biologiquement grâce à l'utilisation des tests de diagnostic rapide pour tout cas suspect. De ce système, nous savons que la fièvre constitue environ 10% des motifs de consultation (variant de 2% à plus de 30% selon les zones géographiques) et 20% des cas de fièvre sont dus au paludisme. Les autres syndromes représentent pour leur part 20%, 10% et 2% respectivement pour les syndromes grippaux, les diarrhées et les syndromes Dengue-like. Ces derniers classements cliniques, uniquement basés sur les définitions de cas du système sentinelle, ne nous permettent pas d'identifier les causes infectieuses des fièvres, d'autant que certaines définitions sont communes à de nombreuses maladies infectieuses. C'est pourquoi il est nécessaire d'évaluer les principales étiologies des fièvres afin d'améliorer la prise en charge des patients fébriles.

## II. Objectifs

L'objectif principal de ce travail est d'effectuer un inventaire approfondi des pathogènes impliqués dans les cas de fièvre, objectivé par des techniques actuelles de laboratoire.

## III. Méthodes

### III.1. Type d'étude et zones d'étude

Il s'agit d'une étude transversale ciblant les patients fébriles (température axillaire  $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$ ) de tout âge (à partir de 6 mois) venant en consultation externe dans 22 districts où sont situés les sites sentinelles des fièvres du Ministère de la Santé et de l'IPM.

### III.2. Fiches de recueil clinique et prélèvements effectués

Entre 30 et 40 patients fébriles sont recrutés par site. Des informations démographiques, cliniques, ainsi que les principaux paramètres anthropométriques sont récoltées pour chaque patient inclus. Les prélèvements biologiques suivants sont réalisés au moment de la consultation : sang total (sur tube sec et tube avec anticoagulant), sang sur papier buvard, prélèvements des voies respiratoires hautes (gorge, nasopharynx) et prélèvements des voies respiratoires basses (crachats) uniquement pour les patients présentant une toux et capables de produire un crachat. Pour chaque patient, un test de diagnostic rapide du paludisme est effectué, et, avec le consentement du patient, un test rapide pour le VIH.

### III.3. Analyses de laboratoire

Les analyses biologiques portent sur la détection (et éventuellement la caractérisation) de différents pathogènes viraux, bactériens et parasitaires, sélectionnés pour refléter l'éventail des maladies infectieuses qui pourraient être présentes à Madagascar.

### III.4. Ethique

Cette étude a reçu une autorisation du Comité d'Ethique National (Autorisation n° 013-MSANP/CE du 26 Mars 2014).

## IV. Résultats

### IV.1. Inclusion des patients et caractéristiques cliniques

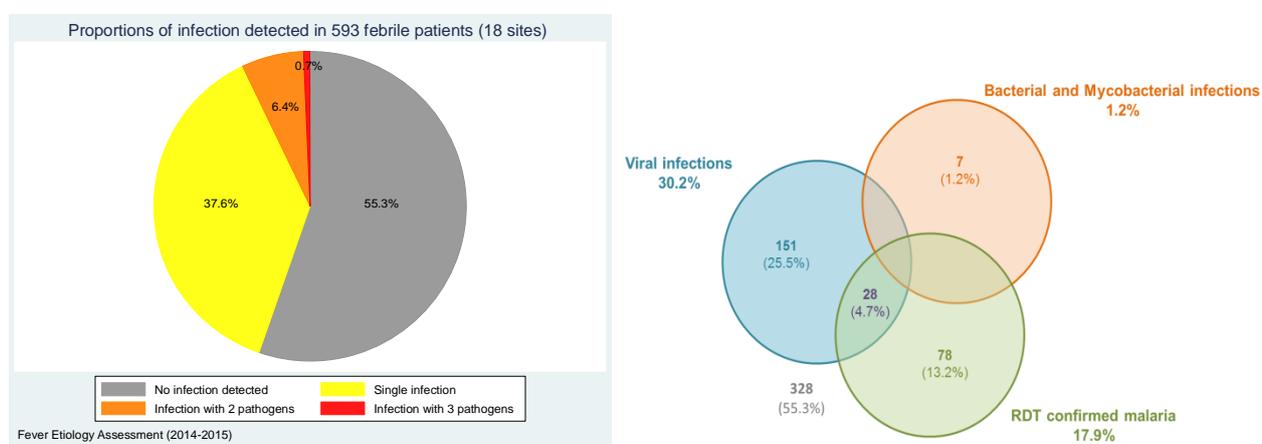
Un total de 685 patients fébriles ont été inclus (sex ratio F/H = 1,0) ; la répartition par tranches d'âge est la suivante : 268 (39,1%) âgés de moins de 5 ans, 165 (24,1%) de 5 à 14 ans, 123 (18,0%) de 15 à 24 ans, 108 (15,7%) de 25 à 49 ans et 21 (3,1%) de 50 ans et plus.

Sur l'ensemble des symptômes et syndromes enregistrés, l'asthénie (52,7%), la céphalée (52,6%), le catarrhe occulo-nasal (50,9%), la toux (49,1%) et l'anorexie (45,7%) étaient le plus souvent décrits. Le catarrhe et la toux étaient majoritairement retrouvés chez les enfants de moins de 5 ans. Le recueil des données anthropométriques chez les enfants de moins de 5 ans a révélé une prévalence de 44,0% (118/268) de malnutrition chronique (taille pour âge, Z-score < -2SD) et de 7,1% (19/268) de malnutrition aigüe sévère (poids pour taille, Z-score < -3SD).

## IV.2. Recherche d'agents infectieux

L'ensemble des analyses menées en collaboration avec différentes unités de recherches à l'IPM (Unité de Recherche sur le Paludisme, Unité des Mycobactéries, Unité de Virologie) et l'Unité de Recherche sur les Zoonoses à l'Université de Pretoria, Afrique du Sud, sur 593 patients fébriles, nous ont permis de détecter au moins un agent infectieux chez 44,7% des patients (265/593). Les cas de coinfection avec 2 pathogènes ou plus représentaient 7,1% (42/593) (Figure 1). Les infections virales comptaient pour 30,2% (179/593) ; une infection virale systémique était détectée chez 9,3% (55/593) des patients, et une infection par au moins un virus respiratoire était retrouvée chez 23,1% (137/593) des patients. Une infection plasmodiale était détectée chez 17,9% (106/593) et une infection bactérienne ou mycobactérienne chez 1,2% (7/593) des patients (Figure 2).

**Figure 1 : Proportions d'infection chez 593 patients fébriles testés pour la présence de 36 agents infectieux ou groupe de pathogènes et proportions de catégories de pathogènes détectés**



## V. Impacts

- Identifier les principaux pathogènes impliqués dans les cas de fièvres de sujets se présentant en consultation dans des Centres de Santé de Base.
- Evaluer la répartition selon l'âge des principaux pathogènes associés aux fièvres.
- Evaluer les possibilités de mise en place de moyens diagnostiques au plus près du malade à Madagascar.
- Proposer de nouvelles stratégies de lutte contre les maladies infectieuses (éducation à la santé, hygiène de vie, vaccination...) en fonction de la prévalence des pathogènes.

## VI. Productions scientifiques

En cours

**EV-A71-PTR484****Circulation d'EV-A71 et le risque d'épidémie en Afrique**

Correspondant :

**Richter RAZAFINDRATSIMANDRESY**Email : [richter@pasteur.mg](mailto:richter@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72****Date de rédaction**

02/03/2016

**Lieux des travaux**

Madagascar

**Budget total**

16 800 €

Co-investigateur IPM

- **Jean-Michel HERAUD**, unité de virologie, [jmheraud@pasteur.mg](mailto:jmheraud@pasteur.mg)

Co-investigateur hors IPM

- **Francis DELPEYROUX**, Institut Pasteur et INSERM- **Henda TRIKI**, Service de Virologie Clinique, Institut Pasteur de Tunis- **Richard NJOUOM**, Service de virologie, Centre Pasteur du Cameroun- **Mohamed SEGHIER**, Laboratoire des Entérovirus Institut Pasteur d'Algérie- **Edgard ADJOGOUA**, Département des Virus Épidémiques, Institut Pasteur de Côte d'IvoireDate début : **01/10/2014**Date fin : **31/10/2016**Durée (mois) : **24**

Financements :

**Direction Internationale**Mots clés : **EV- A71, Madagascar**

## I. Contexte et justification

Les entérovirus humains A 71 (EV-A71) sont des agents pathogènes émergents qui circulent dans le monde. Ils sont responsables de la maladie de mains-pieds-bouche et peuvent provoquer des encéphalites graves chez les enfants. Actuellement, pas de prophylaxie ni de traitement spécifique existent.

Ils sont partagés en 4 génogroupes : B et C qui sont ubiquitaires et circulant notamment en Asie ; et E et F récemment découverts en Afrique et à Madagascar.

## II. Objectifs

- Déterminer la circulation et la diversité des EV-A71 en Afrique à travers les 5 Instituts du Réseau International des Instituts Pasteur (RIIP): IP Madagascar, IP Tunis, IP Côte d'Ivoire, CP Cameroun, IP Algérie et IP Paris.
- Faire des analyses comparatives : génotypiques, phénotypiques et pathogénicités des souches des nouveaux génogroupes.

### III. Méthodes

Nous avons utilisé des échantillons de selles positifs en entérovirus non poliomyélitiques (ENPV) dans le cadre de la surveillance des cas de paralysie flasque aigüe (PFA) depuis 2014 en 2015.

La technique RT-PCR en temps réel spécifique a été utilisée pour détecter les EV-A71. Le test inclus un témoin interne (ICEV-A71) qui permet de s'affranchir des faux négatifs dus à des inhibiteurs et un témoin positif. Le contrôle interne est un ARN transcrit in-vitro à partir d'un segment génétiquement modifié du plasmide pBR322.

La réaction RT-PCR amplifie un segment du gène 1D codant pour une des 4 protéines de capside (protéine VP1).

### IV. Résultats

Au total, 174 prélèvements sont positifs en entérovirus non polio (ENPV) (94 échantillons en 2014 et 80 échantillons en 2015). Pendant le test moléculaire, nous n'avons détecté que trois (03) EV-A71 dont 1 en 2014 et 2 en 2015.

### V. Perspectives

Nos perspectives sont de :

- séquencer en entier ces virus pour pouvoir les comparer avec les autres génogroupes ;
- élargir notre champ d'études en recherchant le virus dans des échantillons provenant d'enfants atteints d'encéphalite et/ou mains-pieds-bouches en consultation à l'hôpital militaire de Soavinandriana.

**EVA SENTFI****Etude de la sensibilité du système de surveillance sentinelle des fièvres à Madagascar**

Correspondant :

**Patrice PIOLA**Email : [ppiola@pasteur.mg](mailto:ppiola@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72****Laurence RANDRIANASOLO**Email : [laurence@pasteur.mg](mailto:laurence@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72**

Co-investigateur IPM

- **Léa RANDRIAMAMPIONONA**, unité d'épidémiologie,  
[leabricette@pasteur.mg](mailto:leabricette@pasteur.mg)

- **Toky RAMAROKOTO**, unité d'épidémiologie, [rtheri@pasteur.mg](mailto:rtheri@pasteur.mg)

- **Arthur RANDRIAMANANTENA**, unité d'épidémiologie, [arthur@pasteur.mg](mailto:arthur@pasteur.mg)

- **Charles Emile RAMAROKOTO**, unité d'épidémiologie, [charlesr@pasteur.mg](mailto:charlesr@pasteur.mg)

Date début : **1/10/2014**Date fin : **30/09/2016**Durée (mois) : **24**

Financements :

**USAID n°AID-687-G-13-00003**Mots clés : **Surveillance, fièvre, sensibilité, Madagascar****Date de rédaction**

20/04/2016

**Lieux des travaux**

Madagascar

**Budget 2015-2016**

24 200 €

## I. Contexte et justification

Depuis avril 2007, un réseau de surveillance sentinelle des fièvres provenant des centres de santé de bases répartis sur l'ensemble du pays permettait de suivre des maladies à potentiel épidémique : le paludisme, la grippe, les arboviroses et la diarrhée. Le critère de déclaration de cas était la température axillaire supérieure ou égale à 37,5°C au moment de la consultation. L'évaluation interne du système de surveillance sentinelle des fièvres en 2011 avait montré que les données recueillies étaient de bonne qualité. Le taux de promptitude d'envoi des données avoisinait 77,6% [IC95% : 72,9 - 82,2] et le taux de complétude des données était de 96,7% [IC95% : 95,4 - 97,9]. Le nombre de cas de fièvre déclarés par centre sentinelle variait de 0 à plus de 100 par jour. Un quart des centres sentinelles affirmait l'absence de cas de fièvre dans la journée. Une question se posait : « est-ce que les résultats sur la distribution spatio-temporelle des maladies sous surveillance pourront être extrapolés à la population du bassin de recrutement ? », d'où la mise en place d'une étude visant à estimer la sensibilité du système de surveillance sentinelle des fièvres à Madagascar.

## II. Objectifs

- Connaître la distribution spatio-temporelle des maladies sous surveillance dans la population du bassin de recrutement d'une sélection de sites sentinelles.
- Estimer le taux d'exhaustivité des cas de fièvres déclarés par les centres sentinelles.
- Améliorer le système de surveillance sentinelles des fièvres à Madagascar.

### III. Méthodes

Une étude transversale prospective utilisant la méthode d'enquête quantitative permettait de comparer les données du centre sentinelle (registre de consultation externe) et un échantillon de population du bassin de recrutement. L'enquête intéressait 6 centres sentinelles tirés au sort parmi les 34 sites de surveillance des fièvres à Madagascar. La définition de cas était un épisode fébrile. L'étude se faisait en deux étapes : un dépistage passif au niveau du centre sentinelle pendant une semaine suivi d'un dépistage actif au niveau de la population pour identifier les cas de fièvre non répertoriés au centre sentinelle (CSB). L'échantillon de la population du bassin de recrutement était constitué par tous les fokontany (élément administratif de base de chaque commune) qui se trouvaient à moins de 5 Km et 2 fokontany tirés au sort qui se trouvaient à plus de 5 Km du centre sentinelle. Des agents communautaires (AC) ont effectués le recensement de la population et des malades. Une carte était distribuée au cours du dépistage passif permettant ainsi de différencier les cas non répertoriés au centre sentinelle lors du dépistage actif au niveau des fokontany. La comparaison des données des deux sources reposait sur l'existence ou non de la carte. Les données étaient stockées dans une base de données à l'IPM et traitées anonymement.

### IV. Résultats et discussions

Le protocole a été présenté au Comité National d'Etudes (CNE) en juillet 2014. Le CNE a classé cette étude « non interventionnelle » donc sans nécessité d'accord éthique préalable.

L'étude s'est déroulée d'août 2014 à mars 2015. Les 6 sites tirés au sort sont Maevatanana, Tolagnaro, Tsiroanomandidy, Ambato Boeny, Ambositra et Toamasina. Par dépistage passif au niveau des centres sentinelles, 157/1157 (13,5%) des consultants ont été des cas fébriles dont l'âge moyen était de 13,2 ans [IC95% : 10,9 ; 15,5] et le sexe-ratio (homme/femme) était de 1,04. La durée moyenne de l'évolution des fièvres était de 3,1 jours [IC95% : 2,4 ; 3,8]. Selon le diagnostic : 7,6% (12/157) des fièvres étaient dues au paludisme, 9,6% (15/157) étaient dues à des diarrhées et 24,2% (38/157) dues à des syndromes grippaux. Selon le niveau d'étude de l'individu ou un de ses parents : 61,4% (94/153) des individus avaient un niveau d'étude secondaire ou plus (4/157 données non disponibles).

Par dépistage actif au niveau de la population, 2783/149855 (1,85%) sujets fébriles ont été identifiés pendant la même période d'enquête, dont le sexe-ratio (homme/femme) était de 0,75 et l'âge moyen était de 21,0 ans [IC95% : 20,3 ; 21,7]. La durée moyenne de l'évolution des fièvres était de 13,3 jours [IC95% : 12,4 ; 14,2]. Selon le diagnostic : 0,1% (3/2.783) était dues au paludisme, 4,5% (125/2.783) étaient des diarrhées et 38,3% (1066/2783) étaient des syndromes grippaux. Selon le niveau d'étude de l'individu ou un de ses parents : 58,0% (1583/2730) des individus avaient un niveau d'étude secondaire ou plus (53/2.783 données non disponible).

Le nombre total de cas non identifiés par les deux sources était de 889 et le nombre total de cas estimés était de 3829 [IC95%: 3497,6 – 4160,4] ; soit 76,8% (2.940/3.829) de cas de fièvres étaient identifiés par les deux sources. En appliquant la formule estimateur de Sekar et Deming, le taux d'exhaustivité de cas identifiés au niveau des sites sentinelles était égal à 4,1% (157/3.829). Par site, le taux d'exhaustivité variait de 2,3% à 12,9% et par pathologie : 70,0% pour le paludisme, 8,8% pour la diarrhée et 2,9% pour le syndrome grippal.

Il a été mis en évidence que les enfants âgés de moins de 6 ans et les fièvres aiguës étaient les plus fréquemment rencontrées au niveau des centres sentinelles. En dépistage passif *versus* dépistage actif : l'âge médian et la durée d'évolution des fièvres étaient respectivement 6 ans vs 14 ans et 2 jours vs 10 jours.

Les principaux motifs de fréquentation étaient la satisfaction de la prise en charge auparavant 56,7% (89/157), et le bon accueil des responsables 17,8% (28/157). Les principaux freins à la fréquentation du centre étaient les autres préférences pour la consultation (médecine traditionnelle, médecin privé, automédication) dans 37,8% (1053/2731) des cas et la non perception de la gravité des signes dans 12% des cas (334/2783). La disponibilité financière était aussi un frein.

Le nombre de signes cliniques ou symptômes associés, le niveau d'étude de l'individu ou un de ses parents et le sexe ne constituaient pas un facteur déterminant de fréquentation d'un centre sentinelle.

## V. Impacts

Le taux d'exhaustivité mesuré par cette étude permet d'estimer la distribution spatio-temporelle des cas de fièvres et les points à améliorer ont été identifiés pour amender les comportements de recherche de soin.

Cette évaluation servira de référence pour les études ultérieures de ce système.

## VI. Communication affichée

- Randriamampionona L. Evaluation de la sensibilité du système de surveillance sentinelle des fièvres à Madagascar. 3<sup>ème</sup> Journées de la Veille Sanitaire dans l'Océan Indien, Ile Maurice, 26 et 27 Octobre 2015.

**FVR-ZORA****La Fièvre de la Vallée du Rift chez l'homme et les bovins à Madagascar**

Correspondant :

**Marie-Marie OLIVE**Email : [mmolive@pasteur.mg](mailto:mmolive@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72****Date de rédaction**

26/01/2016

**Lieux des travaux**

Madagascar

**Budget total**

50 000€

Co-investigateur IPM

- **Jean-Michel HERAUD**, unité virologie, [jmheraud@pasteur.mg](mailto:jmheraud@pasteur.mg)- **Soa Fy ANDRIAMANDIMBY**, unité virologie, [soafy@pasteur.mg](mailto:soafy@pasteur.mg)- **Fanjaso RAKOTOMANANA**, unité d'épidémiologie, [fanja@pasteur.mg](mailto:fanja@pasteur.mg)- **Sedera ANDRIMASINORO**, unité d'épidémiologie, [ansedera@pasteur.mg](mailto:ansedera@pasteur.mg)

Co-investigateur hors IPM

- **Véronique CHEVALIER**, Unité AGIRs, CIRAD- **Vladimir GROSBOIS**, Unité AGIRs, CIRAD- **Annelise TRAN**, Unité AGIRs, CIRADDate début : **01/01/2012**      Date fin : **31/12/2015**      Durée (mois) : **48**

Financements :

**Wellcome Trust; University of Florida; FAO**Mots clés : **Fièvre de la Vallée du Rift, mécanismes de transmission****I. Contexte et justification**

A Madagascar, des épidémies et épizooties dues au virus de la Fièvre de la Vallée du Rift (VFVR) ont été rapportées en 1990-1991 et 2008-2009. A ce jour, les conditions de persistance et de réémergence du virus à Madagascar restent peu connues. Madagascar est considérée comme une île-continent possédant des écosystèmes différents allant de semi-aride dans le sud de l'île, à humide et montagneux sur les hauts-plateaux en passant par sub-tropical dans le moyen-ouest et per-humide dans l'est. Ces écosystèmes sont plus ou moins favorables aux vecteurs de la Fièvre de la Vallée du Rift (FVR). Notre étude se base sur l'hypothèse principale suivante : les mécanismes de transmission et de persistance de la FVR sont différents d'un écosystème à un autre.

**II. Objectifs**

- Déterminer quelles sont les régions à risque de transmission de la FVR à Madagascar chez l'humain et les ruminants et les caractéristiques environnementales et bioclimatiques de ces régions ;
- Déterminer quels sont les comportements humains favorisant l'infection.

### III. Méthodes

Nous disposons de jeux de données d'enquêtes réalisées sur des ruminants en 2009 (projet FAO ; période post-épidémique ; n=1432 ; Jeanmaire E. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011) et d'investigations réalisées de 2011-2013 sur un échantillon aléatoire de la population malgache (projet ZORA ; n=1680). Une analyse conjointe des données ZORA et FAO a été réalisée et est détaillée ci-dessous.

Dans un premier temps, une caractérisation environnementale des 1578 communes de Madagascar a été réalisée. Des données paysagères ont été extraites par imagerie satellite et traitées afin de calculer des pourcentages d'occupation du sol par différents types de végétation (culture, boisé, arbustive, herbacé) et des différents points d'eau (permanent et temporaire). Des données MODIS climatiques (température de jour et nuit, précipitation) et de NDVI (Normalized Difference Vegetation Index) ont été téléchargées à l'échelle des communes de Madagascar. Une Analyse Factorielle Multiple (MFA) a été réalisée afin de caractériser les environnements des communes à partir des données paysagères et climatiques. Cette méthode, qui peut être considérée comme une méthode factorielle (dont la plus connue est l'ACP) s'applique sur des variables séparées en différents groupes. En prenant en compte la structure des données et en étudiant les liens entre les variables, elle produit de nouvelles variables quantitatives (que nous appellerons axes) résumant la relation entre les variables de chaque groupe. Les données environnementales ont été groupées en variables climatiques et paysagères. Les jeux de données sérologiques ont été analysés séparément par un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM) avec le statut sérologique comme variable à expliquer (modèle binomial) et le site de prélèvement comme effet aléatoire. Les valeurs des axes issues de la MFA et l'âge des individus ont été utilisés comme variables explicatives pour les deux analyses. Pour ce qui est des données humaines, le contact avec les ruminants et les produits issus des ruminants (contact ruminant, contact sang frais, contact lait cru) ont également été utilisés comme variables explicatives.

### IV. Résultats et discussions

Quatre axes ont été sélectionnés pour la MFA : (i) axe 1 décrivant un environnement sec (températures de jour et de nuit élevé, végétation herbacée, faibles précipitations annuelles) ; (ii) axes 2 décrivant un paysage de hauts-plateaux (végétation boisée et arbustive, faibles températures, zones irriguées) ; (iii) axe 3 décrivant un environnement urbanisé humide et (iv) l'axe 4 décrivant un environnement humide (points d'eau permanents et temporaires, zones irriguées).

La séroprévalence globale chez l'humain était de 9,5% (IC95% [8,2-11,0]) et chez les zébus de 19,3% (IC95% [17,3-21,8]). Les analyses statistiques multivariées révèlent que de fortes valeurs de l'axe 4 ont une influence positive et statistiquement significative sur la séroprévalence des personnes vivant en milieu rural ( $p < 0.01$ ) et chez les bovins ( $p < 0.001$ ). A l'inverse, les fortes valeurs sur l'axe 1 ont une influence négative et statistiquement significative sur les deux séroprévalences (humains et bovins) ( $p < 0.05$ ). Par ailleurs, le contact avec le lait cru constitue un facteur de risque d'infection chez les personnes vivant en milieu rural. Aucun environnement et comportement n'est associé à l'infection des personnes vivant en milieu urbain.

Ces premiers résultats nous permettent de faire l'hypothèse que les environnements humides seraient plus favorables à la circulation de la FVR et constitueraient donc des environnements à risque autant chez les bovins que les humains. Ceci, suggère l'existence d'une transmission vectorielle dans les deux populations. Ces environnements favorables aux moustiques (longue saison des pluies, nombreux points d'eau, températures moyennes) sont fortement représentés dans le moyen-ouest et la côte-est de Madagascar. Par ailleurs, cet environnement humide serait plus favorable aux vecteurs de genres

*Culex* et *Anopheles*. A Madagascar, lors des épidémies de 2008-2009, des moustiques des espèces *Anopheles squamosus*, *An. coustani* et *Culex antennatus* ont été trouvés naturellement infectés par le VFVR (Ratovonjato, 2011). Ces trois espèces de vecteurs piquent les ruminants et les humains (Tantely ML. *Am J Trop Med Hyg.* 2015). Ainsi, il semblerait qu'en plus d'une transmission directe par contact avec le lait cru, la transmission vectorielle pourrait être impliquée dans l'infection humaine en milieu rural.

## V. Impacts

Cette étude en cours s'attache à comprendre et expliquer l'épidémiologie de la FVR à l'échelle nationale de Madagascar.

Les résultats de cette étude feront objet d'au moins une publication scientifique dans une revue scientifique internationale à facteur d'impact.

## VI. Productions scientifiques

### VI.1. Publications

- Gray GC, Anderson BD, LaBeaud AD, Heraud J-M, Fèvre EM, Andriamandimby SF, Cook EA, Dahir S, de Glanville WA, Heil GL, Khan SU, Muiruri S, Olive MM, Thomas LF, Merrill HR, Merrill ML, Richt JA (2015). Seroepidemiological Study of Interepidemic Rift Valley Fever Virus Infection Among Persons with Intense Ruminant Exposure in Madagascar and Kenya. *Am J Trop Med Hyg.* Dec 9;93(6):1364-70.
- Olive MM, Chevalier V, Grosbois V, Tran A, Andriamandimby SF, Durand B, Ravalohery JP, Andriamamonjy S, Rakotomanana F, Rogier C, Heraud JM (2016). Integrated analysis of environment, human and cattle serological data: risks and mechanisms of transmission of Rift Valley fever in Madagascar. *Plos Neglected Tropical Diseases* (accepté)

### VI.2. Communications affichées

- Olive MM, Heraud JM, Grosbois V, Andriamandimby SF, Tran A, Rakotomanana F, Rogier C, Chevalier V (2015). Joint analysis of human and bovine serological data: new insight on the risk and mechanisms of transmission of Rift Valley fever in Madagascar. The 14th the International Society for Veterinary Epidemiology and Economics (ISVEE) Congress. November 3-7, 2015, Merida, Mexico.
- Olive MM, Heraud JM, Tran A, Andriamandimby SF, Rakotomanana F, Rogier C, Grosbois V, Chevalier V (2015). Environmental and behavioural risk factors of Rift Valley fever (RVF) virus transmission in human and cattle in Madagascar. The [3rd International One Health Congress](#). March 15-18, 2015, Amsterdam, Netherlands.
- Olive MM, Chevalier V, Grosbois V, Tran A, Andriamandimby SF, Durand B, Ravalohery JP, Andriamamonjy F, Rakotomanana F, Rogier C, Heraud JM (2015). Integrated analysis of environment, human and cattle serological data: risks and mechanisms of transmission of Rift Valley fever in Madagascar. Journées départementales d'Epidémiologie et Infection de l'Institut Pasteur. October 19-20, 2015. Chaumont-en-Vexin, France. Prix poster

**G4-CV2****Etude de la compétence et de la capacité vectorielle des principaux vecteurs du paludisme à Madagascar**

Correspondant :

**Ousmane NDIATH**Email : [ousmane@pasteur.mg](mailto:ousmane@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction

17/02/2016

Co-investigateurs IPM

- **Sébastien BOYER**, Unité d'Entomologie Médicale- **Inès VIGAN-WOMAS**, Unité Immunologie des Maladies Infectieuses- **Milijaona RANDRIANARIVELOJOSIA**, Unité de Recherche Paludisme

Lieux des travaux

Madagascar

Budget total

20 000 €

Co-investigateurs

hors

IPM

**Catherine BOURGOUIN**, GFMI, IPPDate début : **1/10/2015**Date fin : **30/09/2017**Durée (mois) : **2ans**

Financements :

Division International, Institut Pasteur Paris

Mots clés : **Anopheles, Malaria, Plasmodium, Compétence vectorielle, Capacité vectorielle****I. Contexte et justification**

La transmission de *Plasmodium* sp. dépend en partie de la compétence vectorielle des anophèles vecteurs ou supposés vecteurs. La compétence vectorielle d'une espèce de moustique est définie comme l'aptitude de celle-ci à permettre le développement d'un pathogène, de son ingestion dans un repas sanguin à sa maturation dans ses glandes salivaires, lui permettant alors de transmettre le pathogène à une prochaine « proie ». Cette compétence vectorielle peut varier pour une espèce de moustique en fonction du pathogène considéré. Réciproquement, la compétence vectorielle peut varier, pour un même pathogène, d'une espèce de moustique à l'autre.

En ce qui concerne la transmission du paludisme, la majorité des travaux portent sur la capacité vectorielle des Anophèles à transmettre *P. falciparum* et/ou *P. vivax*, basée sur la mesure d'indices entomologiques classiques, collectés sur le terrain : densité des populations de moustiques, agressivité pour l'homme, proportion de moustiques porteurs de sporozoïtes, longévité. Bien qu'influençant directement la capacité vectorielle, la compétence vectorielle est rarement déterminée *per se* car sa mesure nécessite un déploiement expérimental complexe (infection expérimentale).

A Madagascar, les données entomologiques de terrain ont de longues dates impliquées *An. gambiae sl.* (*An. gambiae ss* et *An. arabiensis*), *An. funestus* et *An. mascarensis* comme vecteurs majeurs du paludisme. Cependant, aucune donnée n'existe sur leur compétence vectorielle respective vis-à-vis de chacune des deux espèces majeures responsables du paludisme : *P. falciparum* et *P. vivax*. La mise en place d'un site d'infection expérimentale où sont présente chacune de ces espèces de moustique ainsi que *P. falciparum* et *P. vivax* permettra de répondre à cette question.

## II. Objectifs

C'est dans un tel contexte que nous proposons de développer à l'Institut Pasteur de Madagascar au sein de l'Unité d'Entomologie Médicale, dans une approche multidisciplinaire, des études entomologique, parasitologique, et immunologique approfondies pour une meilleure compréhension de la compétence et de la capacité des vecteurs du paludisme.

## III. Méthodes

Faisant suite aux enquêtes prospectives 2014-2015 sur la prévalence de *P. falciparum* et *P. vivax* menées par l'Unité d'Immunologie des Maladies Infectieuses, les zones de Maevatanana et Marovoay ont été retenues pour l'étude de la compétence et de la capacité vectorielle. Mieux, les données entomologiques anciennes ont indiqué la présence de toutes les espèces d'Anophèles vectrices, confirmées par nos investigations entomologiques récentes.

Pour mesurer la capacité vectorielle, des captures de moustiques seront faites sur une période de deux ans (Juin 2015-Mai 2017) pour étudier leur agressivité, leur longévité, leur préférence trophique mais surtout leur taux d'infection. Deux techniques de capture seront utilisées :

- des captures de moustiques sur homme (AHN) : Ces captures se feront au-delà des heures habituelles. Les captures seront effectuées entre 18h et 06h du matin. Dans chaque site, deux postes de capture seront installés pendant 3 nuits consécutives et pour chaque poste on fera une capture à l'intérieur et une autre à l'extérieur.
- des captures par faunes résiduelles (FR) seront également faites dans chaque site à raison de cinq chambres/site choisies de façon aléatoire. Le repas de sang des spécimens gorgés sera récupéré sur papier Wattman pour analyser l'origine des repas sanguins par ELISA.

Ce suivi entomologique échelonné sur une période de deux ans nous permettra de mesurer la capacité vectorielle des différents vecteurs.

Pour mesurer la compétence vectorielle, nous allons comparer la susceptibilité à l'infection de 3 vecteurs majeurs et/ou secondaires (*An. gambiae*, *An. mascarensis* et *An. coustani*). Cette susceptibilité sera d'abord mesurée de manière naturelle (à travers l'étude longitudinale) puis de manière *in vitro* par la technique d'infection artificielle : la "Standard Membrane Feeding Assay" (SMFA). Ceci requière la mise en place d'une plateforme expérimentale qui nécessite des moyens importants et se fait en collaboration directe avec plusieurs unités de l'IPM.

## IV. Résultats attendus et discussions

Dans ce projet, l'objectif principal consiste à étudier la compétence et la capacité vectorielle de 5 différentes espèces de moustiques, vecteurs de paludisme, à Madagascar. Cette étude a un double objectif fondamental et de santé publique. L'objectif de santé publique est de comprendre pourquoi les luttés uniformes n'ont pas fonctionné, et ainsi pouvoir développer des guidelines adaptées aux faciès et aux vecteurs pour les autorités sanitaires. L'objectif fondamental est de connaître les capacités et compétences vectorielles de plusieurs espèces et plusieurs populations vectrices de paludisme. Avec la génétique associée aux données biologiques, nous voulons connaître la structuration des populations, mais également et surtout essayer de comprendre les mécanismes mis en jeu. La découverte de gènes associés à la compétence vectorielle serait un plus dans ce projet.

## V. Impacts

Ce projet a un double impact. Tout d'abord, il a pour but de mettre en place une plateforme d'infection artificielle. D'autre part, la situation de Madagascar en terme de transmission du paludisme offre des perspectives exceptionnelles de recherche, fondamentale et de santé publique, liées à la présence d'*An. gambiae* et *An. funestus*, vecteurs majeurs sur le continent africain et la présence simultanée de *P. falciparum* et *P. vivax*. L'expertise ainsi acquise, tant pour la maîtrise des infections expérimentales que pour la mise en place d'un laboratoire de terrain dédié, pourra également être mise à disposition pour d'autres aspects de l'étude de la transmission de *Plasmodium* de l'Homme aux Vecteurs, ou encore pour des programmes de recherche clinique visant à tester l'efficacité de combinaisons thérapeutiques ou vaccins bloquant la transmission

G4-RMT		Etude des déterminants de la "Residual Malaria Transmission"	
Correspondant :	Email : <a href="mailto:ousmane@pasteur.mg">ousmane@pasteur.mg</a>	Date de rédaction	
<b>Ousmane NDIATH</b>	Tél : +261 20 22 412 72	17/02/2016	
Co-investigateurs IPM		Lieux des travaux	
- <b>Sébastien BOYER</b> , Unité d'Entomologie Médicale		Madagascar	
Co-investigateurs	hors IPM	Budget total	
- <b>Kenneth VERNICK</b> , Génétique et Génomique des Insectes Vecteurs, IPP		80 000 €	
- <b>Karin EIGLEIMEIER</b> , Génétique et Génomique des Insectes Vecteurs, IPP			
Date début : <b>1/10/2015</b>	Date fin : <b>30/09/2017</b>	Durée (mois) : <b>2ans</b>	
Financements :			
<b>Division International, Institut Pasteur Paris</b>			
Mots clés : <b>Anopheles, Malaria, Plasmodium, Compétence vectorielle, Capacité vectorielle</b>			

## I. Contexte et justification

La lutte contre le paludisme a connu ces 10 dernières années des résultats spectaculaires et maintenant, de plus en plus on parle de pré-élimination ou d'élimination. Ces résultats résultent d'une forte action dans la lutte antivectorielle ("Long Lasting Insecticide Nets" (LLINs), "Indoor Residual Spray" (IRS)) et d'une meilleure prise en charge des cas (ACT, TDR...). Cependant, ces efforts semblent menacés par l'émergence de la résistance aux insecticides des principaux vecteurs du paludisme doublée d'une forte adaptation anophélienne. A Madagascar, dans le cadre de la lutte antivectorielle initiée par le Ministère de la Santé avec l'aide de l'USAID (depuis octobre 2007), plusieurs grandes campagnes de distribution de moustiquaires imprégnées (LLINs) ont été lancées dans tout le pays. Cependant, dans presque tous les pays où les LLINs ont été implantés, des modifications profondes ont été notées chez les vecteurs : de l'augmentation de la résistance aux insecticides à une modification de l'agressivité et le changement des heures de piqûres (piqûre pendant le jour). Ces phénomènes contribuent très probablement au maintien de la transmission du paludisme malgré les mesures de contrôle des vecteurs. Aujourd'hui, il est largement admis que la RMT (transmission résiduelle de paludisme) constitue un frein à l'éradication du paludisme et fait l'objet d'une attention particulière de la part des décideurs.

## II. Objectifs

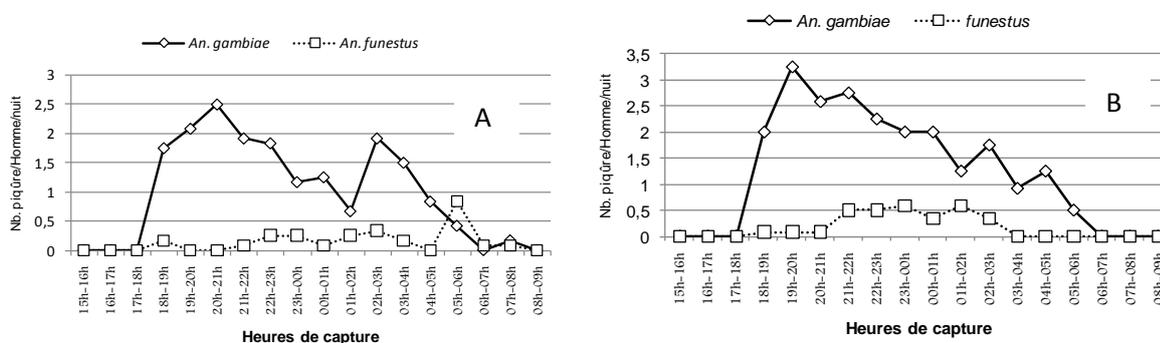
L'objectif de cette étude sera d'analyser les facteurs environnementaux et génétiques qui sous-tendent le comportement atypique des moustiques :

- Quantifier la RMT
- D'étudier les causes de la RMT

### III. Méthodes

Cette étude se déroule dans le district de Marovoay. Elle a commencé 4 mois avant la dernière campagne de distribution des moustiquaires imprégnées qui se sont déroulées en novembre 2015. Les captures de moustiques sur appât humain se font tous les mois pendant 3 nuits consécutives le jour et la nuit (entre 15h et 09h du matin) dans les chambres d’habitations par des captureurs volontaires. Parallèlement, des captures se font au niveau des lieux de cultes (églises et mosquées). Pour chaque capture, les paramètres entomologiques seront étudiés. Les niveaux de la transmission dans les lieux de cultes seront estimés par rapport à la transmission globale. Grâce à l’utilisation de marqueurs moléculaires comme les marqueurs microsatellites, une comparaison entre les populations qui piquent le jour et celles qui piquent la nuit sera faite.

### IV. Résultats et discussions



**Figure 1 : Cycle horaire d’agressivité d’*An. funestus* et d’*An. gambiae* s.l. à l’intérieur (A) et à l’extérieur des habitations (B).**

On observe une forte agressivité d’*An. gambiae* à l’intérieur des habitations. Cette agressivité est beaucoup plus importante durant la première partie de la nuit qui diminue considérablement vers minuit pour ensuite remonter. Par contre pour l’agressivité à l’extérieur, elle augmente rapidement pendant les premières heures de captures pendant que la population est encore active et diminue au fur et à mesure que la nuit avance. Pour *An. funestus*, on note deux pics tardifs vers 05h et 09h du matin et seulement à l’intérieur des habitations.

### V. Impacts

Les résultats obtenus au cours de cette étude permettront de quantifier la Residual Malaria Transmission. Cette étude permettra de déterminer les mécanismes génétiques qui soutendent l’orientation du moustique à piquer par exemple le jour. Elle mettra aussi à la disposition du programme nationale de lutte contre le paludisme des méthodes de lutte adaptées à la RMT

**GISVEC****GIS and VECtor Control program to identify priority areas for indoor residual spraying**

Correspondant :

**Fanjasoa RAKOTOMANANA**Email : [fanja@pasteur.mg](mailto:fanja@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72****Date de rédaction**

25/02/2016

**Lieux des travaux**Hautes Terres, Marges  
des hautes terres et  
Sud de Madagascar**Budget total**

119 176 €

Co-investigateurs IPM

- **Patrice PIOLA**, Chef d'Unité Epidémiologie, IPM- **Florian GIROND**, Appui SIG, CELSIGS, Unité Epidémiologie, IPM- **Milijaona RANDRIANARIVELOJOSIA**, **Elisabeth RAVAOARISOA**, Unité de  
recherche sur le Paludisme, IPM- **Bienvenue RAHOILJAONA**, Technicien programmeur en Géomatique, Unité  
Epidémiologie, IPM- **Hobiniaina Anthonio RAKOTOARISON**, Ingénieur Télédétection et SIG, Unité  
Epidémiologie, IPM

Co-investigateur hors IPM

- **Judith HEDGE**, CDC Resident Advisor in MadagascarDate début : **26/09/2012**Date fin : **30/09/2017**Durée (mois) : **72**

Financements :

**USAID**Mots clés : **SIG, Analyse multicritère, paludisme, lutte****I. Contexte et justification**

Dans les Hautes Terres Centrales (HTC), l'histoire du paludisme a été marquée par des épidémies meurtrières du fait de l'existence d'un paludisme instable. Plusieurs types d'interventions ont été menés à Madagascar pour lutter contre le paludisme, particulièrement pour maintenir la transmission au niveau le plus bas. Ces efforts, devenus plus sélectifs dans les zones en voie de pré-élimination, ont toujours été soutenus par des financements extérieurs. L'optimisation de l'utilisation des ressources allouées est donc primordiale pour les pays à ressources limitées comme Madagascar. L'analyse multicritère a été utilisée pour l'identification des zones prioritaires pour l'intervention. Cette méthode est basée sur la théorie des limites floues où la limite entre l'aptitude ou non d'un facteur varie de façon progressive à travers l'espace (par exemple, distance entre village-gîtes larvaires). Il existe toutefois des contraintes (exemple : zone d'altitude moins de 800m ou plus de 1500m, zone urbaine...). Les zones affectées par une contrainte ne sont pas prises en compte dans les calculs de risque et donc pas priorisées pour une campagne d'aspersion intradomestique d'insecticide. Les facteurs et contraintes sont donc traités et combinés de manières différentes.

## II. Objectif

Proposer un outil d'aide à la décision pour l'identification des zones prioritaires d'intervention en matière de campagne d'aspersion intra domiciliaire d'insecticide.

## III. Méthodes

### III.1. Zone d'étude

Pour l'année 2015, le modèle de risque a été mis à jour avec une extension dans le district de Farafangana qui a connu une forte recrudescence du paludisme.

### III.2. Méthodologie

Le modèle de risque a été mis à jour à partir des données récentes d'occupations du sol, de température et de pluviométrie de la période de novembre 2014 à avril 2015 (saison de transmission). Les risques ont été calculés pour les zones habitées. Les mêmes critères que ceux de l'année 2014 ont été retenus pour établir le modèle. Une comparaison des catégories de risques des deux années consécutives, a été effectuée. Les surfaces des zones qui ont subi des changements ont été calculées.

## IV. Résultats et discussions

Nous avons obtenu un modèle de risques de paludisme des HTC pour l'année 2015. La comparaison entre 2014 et 2015 a montré que 12,6% de la surface des zones considérées ont subi des changements par rapport aux catégories des risques. En 2015, 8,3% des surfaces calculées sont passées en catégorie de risque plus élevé que celui de l'année précédente alors que 4,3% de la surface avec des catégories de risque plus élevé sont passées en catégorie de risque moins élevé (Figure 1). Pour le district de Farafangana, le risque est élevé dans sa plus grande partie, allant dans le sens de la forte recrudescence des cas de paludisme en 2014. L'évaluation multicritère des risques de paludisme a été basée sur des paramètres environnementaux, climatiques et démographiques. Sur le plan opérationnel, l'analyse multicritère pour l'aide à la décision nécessite l'intégration d'autres informations telles que les alertes et les interventions effectuées.

## V. Impacts

L'outil a été présenté auprès des responsables de la Direction de lutte contre le paludisme. Outre l'identification des zones prioritaires pour les aspersion intradomiciliaires d'insecticide, ils ont manifesté un grand intérêt pour l'outil dans la réorientation stratégique du choix du type d'intervention en matière de lutte anti-vectorielle. Ils ont introduit la mise en place de l'outil dans leur budgétisation pour le Nouveau Model de Financement (NMF).

## VI. Productions scientifiques

### VI.1. Communications orales

- Rakotomanana Fanjasoa, Rakotoarison Hobiniaina Anthonio. XIIIème Journées Scientifiques du Réseau de télédétection, Dakar, Février 2015. La Télédétection et le Système d'Information Géographique, un outil d'aide à la décision dans la lutte contre le paludisme à Madagascar.

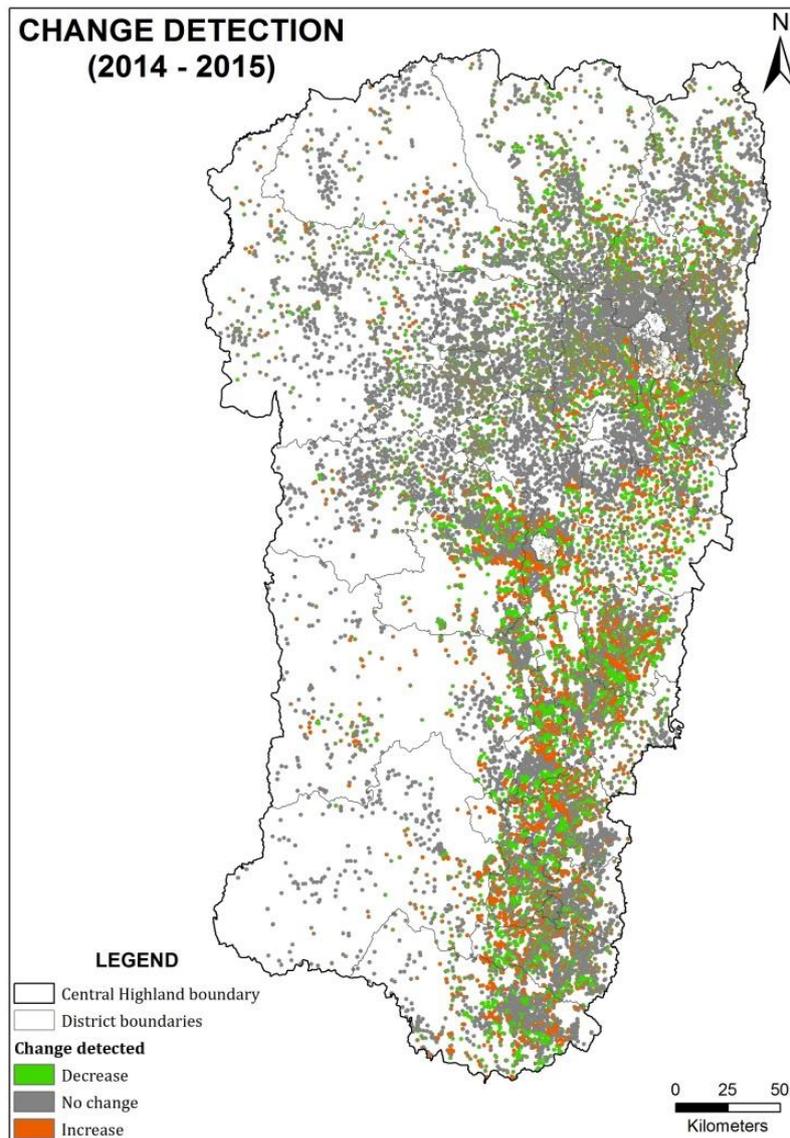


Figure 1 : Changement de catégorie de risque entre 2014 et 2015.

**Hanta-MADOI****Ecologie des Hantavirus à Madagascar et dans l'Océan Indien**

Correspondant :

**Jean-Michel HERAUD**Email : [jmheraud@pasteur.mg](mailto:jmheraud@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72****Claudia FILIPPONE**Email : [cfilippone@pasteur.mg](mailto:cfilippone@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72**

Co-investigateur IPM

- **Sandra TELFER**, unité peste, [stelfer@pasteur.mg](mailto:stelfer@pasteur.mg)- **Vololoniaina RAHARINOSY**, unité de virologie, [ainarnosy@pasteur.mg](mailto:ainarnosy@pasteur.mg)Date début : **2013**Date fin : **2016**Durée (mois) : **36**

Financements :

**Wellcome Trust (Fellowship 2011-2016); Institut Pasteur de Madagascar**Mots clés : **Hantavirus, micromammifères, écologie virale, Madagascar****Date de rédaction**

25/02/2016

**Lieux des travaux**

28 sites sentinelles de surveillance des fièvres

**Budget total**

15 000€

**I. Contexte et justification**

Chez l'homme, l'infection par les hantavirus peut provoquer des maladies graves. Des études préliminaires sur les hantavirus chez des micromammifères sauvages de Madagascar ont mis en évidence un nouveau variant génétique du virus Thailand (THAIV) rencontré en Asie du sud-est et nommé Anjozorobe virus (ANJOV) (Reynes JM *et al.* *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2014).

**II. Objectifs**

- Mieux comprendre/décrire l'introduction et la distribution spatiale et temporelle des hantavirus à Madagascar et dans les îles de l'Océan Indien (Seychelles, Maurice, La Réunion),
- Analyser les caractéristiques moléculaires de ces virus, et évaluer les risques d'infection chez l'homme.

**III. Méthodes**

Dans le cadre du projet d'étude sur les zoonoses (cf. fiche **ZORA/PRIZM**), des prélèvements de sang d'un échantillon représentatif de la population malagasy (1 680 individus), ainsi que des organes obtenus à partir de micromammifères capturés (1279 individus) sont disponibles. Le projet utilisera aussi les échantillons collectés dans la région de Moramanga dans le cadre du projet PRIZM (cf. Fiche **ZORA/PRIZM**) où les micromammifères sont capturés dans divers habitats incluant la forêt naturelle et plantation, rizières et maisons. Des analyses phylogénétiques à partir des virus détectés à Madagascar et dans la région de l'Océan Indien (OI) seront réalisées.

#### IV. Résultats et discussions

A ce jour, 1 279 organes de rongeurs ont été testés. Pour l'ensemble de Madagascar, nous avons trouvé une prévalence du virus ANJOV de 8,8% (113). Nous avons détecté la circulation de cet hantavirus sur presque tout le territoire à l'exception de deux zones (Belo/Tsiribihina et Ambovombe). Les premières analyses phylogénétiques semblent indiquer que les souches de virus ANJOV forment des clusters répartis par zones géographiques. Ceci pourrait s'expliquer par des dynamiques particulières des populations de réservoirs. Des analyses plus fines sont nécessaires pour l'analyse des dynamiques des populations virales à Madagascar.

Concernant le volet humain, les sérums provenant des 1680 individus ont été testés par IgG ELISA en utilisant des antigènes recombinants des hantavirus Dobrava et Hantaan qui infectent les rongeurs de la sous-famille des *Murinae*, comme c'est le cas pour le virus Anjozrobe découvert à Madagascar. Nous avons pu observer une séroprévalence de 1.7% au sein de la population. Des analyses additionnelles seront effectuées en utilisant des antigènes spécifiques pour des virus Thaïlande et de son variant génétique malgache ANJOV, afin de confirmer ces résultats préliminaires.

#### V. Conclusion

Nos résultats vont dans le sens d'une distribution large des hantavirus à Madagascar. Les mécanismes d'introductions restent encore à élucider. Les résultats de séroprévalence en population, nous permettra d'évaluer les facteurs de risques d'infection par ANJOV dans les populations humaines de Madagascar.

#### VI. Impacts

Une cartographie de la répartition des hantavirus chez l'homme et les petits mammifères terrestres, dans les différents écosystèmes de Madagascar pourra être réalisée. Ceci permettra, entre autres, de cibler les prochaines études de surveillance et de recherche sur ces pathogènes. Enfin, une étude des facteurs de risque associés à l'infection par les hantavirus chez l'homme sera menée.

HepMada		Epidémiologie moléculaire des virus de l'hépatite B et E à Madagascar	
Correspondant :		Date de rédaction	
<b>Soa Fy Andriamandimby</b>		20/01/2016	
Email : <a href="mailto:soafy@pasteur.mg">soafy@pasteur.mg</a>		Lieux des travaux	
Tél : +261 20 22 412 72		Madagascar	
Co-investigateur	IPM	Budget total	
<b>Hasina RABARISON</b> , unité de virologie		15 000€	
Co-investigateur hors IPM			
- <b>Professeur Rado Ramanampamonjy</b> , USFR-Hepato-gastro-entérologie CHU Befelatanana			
- <b>Professeur Rivo Rakotoarivelo</b> , USFR - maladies infectieuses CHU Befelatanana			
Date début : <b>01/01/2012</b>	Date fin : <b>31/12/2016</b>	Durée (mois) : <b>48</b>	
Financements :			
<b>Institut Pasteur de Madagascar</b>			
Mots clés : <b>Hépatites, Zoonoses, Madagascar</b>			

## I. Contexte et justification

Les hépatites virales sont causées principalement par l'un des virus exclusivement hépatotropes nommés A, B, C, D ou E. D'autres virus sont capables d'entraîner occasionnellement des lésions hépatiques. Le virus de l'hépatite E (HEV) se transmet par voie oro-fécale, tandis que le virus de l'hépatite B (HBV) se transmet par voie sanguine ou sexuelle. Le virus de l'hépatite B peut conduire au portage chronique et peut entraîner une cirrhose qui est un facteur de risque d'évolution vers le cancer hépatocellulaire.

A Madagascar, une récente étude effectuée a montré une prévalence élevée d'HEV chez les porcs avec une circulation du génotype-3. Chez l'homme, l'étude de séroprévalence a donné une estimation de 14,7% chez les travailleurs dans les abattoirs. Les études menées et publiées sur l'hépatite B à Madagascar ont montré que le pays se situe dans la zone à haute prévalence par rapport à l'infection avec une prévalence jusqu'à 23% dans la population générale. Cette prévalence diffère selon que la zone est urbaine (5,3%) ou rurale (26%). La transmission en zone rurale se fait essentiellement en périnatal ou en postnatal.

## II. Objectifs

Cette étude se propose de collecter les données épidémiologiques et virologiques sur les hépatites virales afin de répondre aux objectifs suivants :

- Remettre à jour la prévalence des hépatites B et E à Madagascar ;
- Déterminer la relation des taux de séroprévalence avec l'âge et le lieu à Madagascar ;
- Evaluer le poids de la maladie en relation avec l'infection par les virus des hépatites à Madagascar ;
- Décrire les génotypes des virus de l'hépatite B circulant à Madagascar ;
- Retracer l'histoire de l'introduction et de la circulation des virus de l'hépatite B à Madagascar.

### III. Méthodes

#### III.1. Sérothèque humaine

Durant notre étude, nous avons utilisé la sérothèque provenant d'une campagne de prélèvements, qui a débuté en novembre 2011 et s'est terminée à la fin du mois d'avril 2013 dans le cadre du projet ZORA. Un prélèvement de 15 ml de sang a été réalisé sur chacune des personnes recrutées. Sur le terrain, les aliquotes de prélèvements ont été conservés à 4°C ou dans un Dewar refroidi en azote liquide. Chacune des personnes prélevées a été questionnée individuellement sur ses contacts avec les animaux domestiques, sauvages et leurs environnements. Cette étude a reçu l'autorisation du comité d'éthique national (Autorisation n° 066 - MSANP/CE du 26 juillet 2011).

#### III.2. Analyses virologiques

L'étude de prévalence de l'Antigène HBs (AgHBs), un marqueur de portage du virus HBV, et de la séroprévalence en anticorps anti-HEV, un marqueur d'infection ancienne du virus HEV a été faite en utilisant respectivement une technique maison et le kit Wantai®. Ce kit est celui recommandé par le CNR des hépatites A et E en France. L'étude moléculaire des souches circulant a été faite à partir des échantillons conservés à cet effet à -80°C.

Une partie du génome viral a été analysée dans le but de décrire l'aspect phylogéographique de la circulation du virus de l'hépatite B à Madagascar et les éventuels liens avec les autres souches de différentes origines géographiques. Le génotypage a été effectué avec une amplification génomique et analyses des séquences (Blast) selon Bartholomeusz et al. (2007).

#### III.3. Etude cas-témoin

Une étude cas-témoin, en collaboration avec le service des hépatogastro-entérologie et du service des maladies infectieuses est menée afin d'évaluer la part attribuable à l'infection par les virus des hépatites dans les maladies chroniques du foie.

### IV. Résultats et discussions

Dans le volet « hépatite », 1781 échantillons collectés dans le cadre du projet « ZORA » ont été utilisés pour la recherche d'AgHBs (Hépatite B) et d'IgG anti-HEV (901 hommes et 879 femmes ; sex- ratio H/F = 1,02). L'âge des individus recrutés se situe entre 17 et 100 ans, avec une moyenne d'âge de 37,7 et une médiane de 35,0 ans.

#### IV.1. Hépatite virale HBV

Pour la recherche d'AgHBs, 142 échantillons ont été testés positifs (7,97% IC à 95% = [6,77–9,35]). La séroprévalence variait 1,7% à 18,3% selon les districts. Notre analyse a montré que la prévalence augmente quand on s'éloigne des grands axes routiers nationaux ( $p=0.004$ ), la séroprévalence est aussi statistiquement liée avec le recours avec la médecine traditionnelle ( $p=0.01$ ). Ceci pose surtout le problème de l'accessibilité aux vaccinations pour ce type de population. La prévalence est aussi plus élevée chez la population à niveau d'éducation plus élevé. Ceci pourrait être expliqué à un facteur de confusion non identifié dans notre étude plus qu'une part de transmission horizontale durant l'âge adulte. L'analyse préliminaire a montré que l'on pourrait éviter environ 20% des maladies chroniques hépatiques en luttant contre les infections par les HBV.

#### IV.2. Hépatite virale HEV

L'étude de séroprévalence en IgG dirigées contre le virus de l'hépatite E a montré un résultat global de positivité de 16,8% (n=300). La circulation du virus HEV chez l'homme se fait de façon endémique. La séroprévalence est statistiquement liée aux différents modes de contact avec les porcs (vie sous le même toit, abattage, et manipulation de carcasses de porcs). Par contre, aucun lien n'est observé chez les manipulateurs de viandes de porcs dans les activités culinaires (manipulation de viande crue, découpe, et cuisine). L'utilisation de toilettes de façon individuelle et situées à l'extérieur de l'habitation représente un facteur de risque, tandis que le fait de ne pas avoir de toilette, d'utiliser des puits publics pour l'eau de boisson sont des facteurs protecteurs. Tout ceci suggère une contamination de l'homme selon ses modes de vie et la proximité avec les sources de virus (les porcs). Enfin, le lavage des mains est un facteur protecteur chez notre population.

#### V. Impacts

Une cartographie de la répartition des différents virus des hépatites et de leurs génotypes a été réalisée. Ceci permettra, entre autre, de cibler les prochaines études de surveillances et de recherches sur ces pathogènes, de plaider pour la mise en place d'autres moyens de lutte (dépistage systématique chez les femmes enceintes et les populations à risque, amélioration de la disponibilité de traitement et des immunoglobulines, améliorer l'accessibilité aux vaccins monovalents afin que les enfants puissent accéder au vaccin anti-HBV dès la naissance) en plus de la vaccination sous sa forme et ses calendriers actuels.

#### VI. Publication et Communication orale ou affichée

- Andriamandimby SF, Lo Presti A, Lai A, Olive MM, Angeletti S, De Florio L, Cella E, Razafindramparany M, Ravalohery JP, Andriamamonjy S, Zehender G, Mottini G, Ciccozzi M, Heraud JM. Genetic diversity of Hepatitis B Virus (HBV) in Madagascar. Soumis à *Journal of Medical Virology*

HMelioid		Mélioïdose
Correspondant :		Date de rédaction
<b>Jean-Marc COLLARD</b>	Email : <a href="mailto:jmcollard@pasteur.mg">jmcollard@pasteur.mg</a>	03/03/2016
	Tél : <b>+261 20 22 412 72</b>	Lieux des travaux
<b>Benoit GARIN</b>	Email : <a href="mailto:benoit.garin@pasteur.fr">benoit.garin@pasteur.fr</a>	Mahajanga, Antananarivo (IPM), Madagascar
Co-investigateurs IPM		Budget total
<b>Vaomalala RAHARIMANGA</b> , unité d'épidémiologie, <a href="mailto:rvmalala@pasteur.mg">rvmalala@pasteur.mg</a>		30 000 €
Co-investigateurs hors IPM		
- <b>I. DJAOMALAZA</b> , MEC Mahajanga, <a href="mailto:djaomalazainnocente@yahoo.com">djaomalazainnocente@yahoo.com</a>		
Date début : <b>1/09/2011</b>	Date fin : <b>25/09/2013</b>	Durée (mois) : <b>24</b>
		Prolongation jusqu'au <b>1/10/2016</b>
Financements :		
<b>Actions Concertées Inter-Pasteuriennes (ACIP). IB : 17-04</b>		
Mots clés : <b>Mélioïdose, <i>Burkholderia pseudomallei</i>, tellurique, septicémie</b>		

## I. Contexte et justification

*Burkholderia pseudomallei* (ou bacille de Whitmore) est une bactérie saprophyte retrouvée dans le sol et l'eau des zones endémiques. Elle est située dans la profondeur du sol pendant la saison sèche et après des pluies importantes elle peut remonter en surface. Cette bactérie est transmise à l'homme ou aux animaux exposés à des sols humides par voie transcutanée ou, plus rarement, par inhalation ou ingestion. Elle est responsable de la mélioïdose également appelée maladie de Stanton, infection particulièrement sévère, à mortalité très élevée de l'ordre de 20 à plus de 50 %, selon les formes. Cette maladie est endémique dans le Sud-Est Asiatique et le Nord de l'Australie. La mélioïdose est aujourd'hui classée dans les maladies infectieuses émergentes, mais peu de données existent sur sa présence en Afrique et dans l'Océan Indien bien que des cas humains et animaux aient été déjà rapportés.

## II. Objectifs

- Chercher la présence de cas humains de mélioïdose à Madagascar.
- Identifier des facteurs de risque de contracter la maladie.
- Déterminer la structure et la diversité génétique des souches isolées.
- Comparer les clones obtenus avec les clones internationaux.
- Réaliser des études environnementales.

### III. Méthodes

#### III.1. Etude

Il s'agissait d'une étude transversale en milieu hospitalier d'une durée de 18 mois. L'échantillon de patients inclus comprenait tous les patients qui correspondaient aux critères d'inclusion (syndrome septicémique, âge > 18 ans) et qui avaient donné leur agrément pour participer à l'étude.

#### III.2. Culture et identification

Les hémocultures ont été analysées, d'une part comme des hémocultures classiques et d'autre part, ensemencées sur milieu d'Ashdown avec une incubation de 24 à 48 heures à 37°C pour détection et identification de *B. pseudomallei*. Les échantillons de sols et d'eaux ont d'abord été pré-enrichis dans du bouillon Ashdown avant d'être ensemencés.

#### III.3. Typage moléculaire des souches

Les ADN de *B. pseudomallei* ont été utilisés pour typage par MLST pour permettre l'analyse phylogénétique des souches. Certaines des souches pourraient encore être entièrement séquencées.

#### III.4. Gestion et analyse des données

Les données collectées étaient celles obtenues à travers les interrogatoires menés sur le malade et celles obtenues au décours des examens de laboratoire.

Après saisie sur Excel, les données ont été analysées sous Stata. Une recherche de facteur de risque de la maladie a été faite à partir des données récoltées par interrogatoire.

### IV. Résultats et discussions

La première inclusion a été faite le 5/04/2012, la dernière le 25/09/2013, soit 18 mois d'inclusion, comprenant 185 patients et 205 hémocultures.

Le CHU d'Androva a été le principal utilisateur des hémocultures, notamment le service des urgences, SUSI. Le nombre de patients fébriles inclus dans l'étude était de  $185/18=10$  par mois ce qui est insuffisant pour un hôpital de ce type.

Description des cas :

#### IV.1. Premier cas

Homme de 52 ans, riziculteur à Marovoay (100 kms de Mahajanga), hospitalisé en juillet **2012** au CHU d'Androva. Le terrain favorisant était un diabète méconnu. Par la suite un tableau fébrile et septicémique le fait hospitaliser à Mahajanga. L'hémoculture révélera au 8<sup>ème</sup> jour une *Burkholderia gladioli* qui sera rendue *Pseudomonas* spp. Son décès surviendra 3 jours après son admission et la radiographie thoracique montrera une pleuro-pneumonie gauche et l'échographie abdominale une hépato-splénomégalie avec de multiples abcès de la rate.

#### IV.2. Second cas

Homme de 45 ans, travaillant comme cadre dans une plantation de tabac à Mampikony (250 kms de Mahajanga), mais aussi riziculteur et ancien exploitant de plantation de canne à sucre. Lors de son hospitalisation au CHU d'Androva en mai **2013**, quatre hémocultures ont été prélevées, 2 ont poussé

avec *B. pseudomallei* au 5<sup>ème</sup> jour et une avec *K. pneumoniae*. L'identification par API20NE a été faite facilement pour ce cas.

Les points communs de ces deux cas sont leur âge, leur profession, leur terrain diabétique, leur histoire clinique et leur issue fatale.

#### IV.3. Description génotypique des deux isolats

La rtPCR TTS(Type Three Secretion)<sup>1</sup> a permis l'identification du premier cas et a confirmé le second cas. Le test d'agglutination au latex était aussi positif pour les deux souches. Une MLST (Multi Locus Sequence Typing) a permis de génotyper ces deux souches. Elles sont toutes les deux d'un nouveau séquence-type, ST1053 et ST1054 éloignés de ceux des souches déjà connues, l'un étant un Single Locus Variant (SLV) d'une souche d'un patient Français hospitalisé en Belgique en mars 2013 pour une mélioïdose qu'il a contracté lors de ces séjours à Mahajanga (Rossi C. Melioidosis—Belgium ex Madagascar. ProMed. 2013 May 3. <http://www.promedmail.org>, archive no. 20130503.1687746.) et l'autre un SLV d'une souche isolée chez un Mauricien en 2006.

#### IV.4. Prélèvements de l'environnement direct d'un cas de mélioïdose (patient français) hospitalisé en Belgique en 2013 et ayant régulièrement voyagé à Mahajanga

Quatre échantillons d'eau (eau de puits, eau de douche reliée à ce puits, eau sortant du tuyau d'arrosage relié au même puits, eau de robinet relié à un fût dans la cour de l'habitation du cas hospitalisé et 12 échantillons de sols et du fertilisant (mission du 24/05/14) ont été analysés pour la recherche de *B. pseudomallei*.

Après filtration et concentration des eaux, aucune pousse n'a été observée.

Par contre, la mise en culture des 12 sols échantillonnés (pré-enrichissement et ensemencement sur une gélose) a permis d'isoler des colonies de *B. pseudomallei* à partir de 3 échantillons (dénommé A4, A8 et A12). Le test rapide sur bandelette et le test au latex ont confirmé l'identification, de même les qPCR TTS1 123bp et TTS1 548bp.

L'identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF avec la base de données SR (Security Relevant) des 3 souches environnementales et des 2 cas humains a donné comme résultats *B. pseudomallei* avec des scores variant de 2,1 à 2,3 (bonne identification).

Le typage par MLST des 3 ADN des souches environnementales a révélé des séquence-types différents des cas humains: ST-1430 (A12) et ST-1431 (A4) et un ND (A8) qui doit être reséquencé.

#### IV.5. Perspectives

Le séquençage génomique complet des ADN des 5 souches isolées de patients Français et Malagasy à Mahajanga (2004, 2005, 2012 et 2013), ainsi que des souches isolées de l'environnement d'un cas, sera d'un apport vraisemblablement important pour commencer à décrypter l'histoire évolutive de cette maladie dans la région de l'Océan Indien.

## V. Impacts

Cette maladie infectieuse, ignorée des médecins Malagasy et non-enseignée dans les Facultés de Médecine devrait être à nouveau prise en compte notamment par les autorités sanitaires. Le typage par MSLT a montré un certain polymorphisme même si certaines souches ne différaient que par un allèle. Ce polymorphisme suggère que *B. pseudomallei* est endémique et n'a pas été récemment introduit.

## VI. Productions scientifiques

### VI.1. Publications

- Benoit G., Innocente D., Natasha D., Mahafaly, Vaomalala R., Fidiarivony R., Perlinot H., Nivosoa C., Dereck, Mark .M., Myriam K., Bart C. 2014. Autochthonous Melioidosis in Humans, Madagascar, 2012 and 2013. *EID* 20, **10**: 1739-1741.

### VI.2. Communications orales/posters

- RAKOTONDRA SOA Andrianiaina. Mélioïdose à Madagascar (*Burkholderia pseudomallei*). Congrès Scientifique de la Faculté de Médecine, 30 Septembre 2014, Ivato Antananarivo.
- RAKOTONDRA SOA Andrianiaina, BIOT Fabrice, BRUN Solenne, DJAOMAZALA Innocente, DUBOIS-CAUWELAERT Natasha, VALADE Eric, GARIN Benoît, COLLARD Jean-Marc. Mahajanga : un 'hot spot' pour l'acquisition de la mélioïdose à Madagascar. Journées Scientifiques du Réseau SEGA "One Health". 26-27 octobre 2015, Ile Maurice.

**HTC**

**Comparaison entre la recherche active des cas de paludisme et l'administration de masse de médicaments autour d'un cas index de paludisme pour informer le programme national de lutte contre le paludisme sur la meilleure stratégie d'élimination du paludisme : Essai randomisé par grappes dans 17 districts des hautes terres centrales de Madagascar (2016-2019)**

Correspondant :

**Patrice PIOLA**Email : [ppiola@pasteur.mg](mailto:ppiola@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72****Date de rédaction**

25/04/2016

**Lieux des travaux**Hautes Terres  
Centrales**Budget total**

474 000 USD

Co-investigateurs IPM

- **Milijaona RANDRIANARIVELOJOSIA**, unité de recherche sur le paludisme- **Judicaelle IRINANTENAINA**

Co-investigateur hors IPM

- **Judith HEDGE**, PMI, Antananarivo, Madagascar- **Laura STEINHARDT**, PMI, Atlanta, USADate début : **2015**Date fin : **2018**Durée (mois) : **30****(protocole/financement)**

Financements :

**PMI/USAID**Mots clés : **Madagascar, paludisme, Haute Terre Centrale, Primaquine, Surveillance, Transmission****I. Contexte et justification**

Les hautes terres centrales de Madagascar - une région de transmission faible et instable du paludisme - sont des zones à risques d'épidémie de paludisme. Les dernières enquêtes sur les indicateurs du paludisme montrent qu'en 2011 et 2013, la prévalence de l'infection plasmodiale chez les enfants de moins de cinq ans, déterminée par la microscopie, était respectivement de 0,8% et de 0,7% dans les hautes terres centrales. Cette prévalence suffisamment basse suggère que cette région de Madagascar est dans une phase de pré-élimination du paludisme. Cependant, les interventions de lutte contre le paludisme successives conduisent également à un modèle épidémiologique complexe avec le regroupement dans les petites régions géographiques ou de sous-populations. La recherche active des cas (RAC) est proposée pour détecter et traiter les cas de paludisme dans les zones de faible endémicité. La RAC décrit une activité dans laquelle dans un rayon donné les membres de la communauté sont dépistés et traités autour d'un cas index détecté dans un centre de santé (CS). Une stratégie connexe à la RAC est l'administration de masse de médicaments antipaludiques autour d'un cas index de paludisme (AMMi), qui consiste à traiter la communauté autour d'un cas index de paludisme sans réaliser préalablement des tests pour le paludisme ou les résultats d'une analyse. Comme les tests de diagnostic rapide (TDR) ne permettent pas de détecter les infections plasmodiales avec des charges parasitaires faibles, des infections infra-microscopiques peuvent entretenir dans les hautes terres centrales la transmission du parasite.

Ainsi, dans le contexte de l'élimination du paludisme en tant que problème de santé publique, la présente étude proposée (essai clinique en clusters randomisé) a pour objectif d'évaluer l'efficacité de la RAC et l'AMMi pour réduire la transmission du paludisme. Les interventions seront réparties au hasard aux clusters ayant des centres de santé avec leurs agents communautaires respectifs.

## II. Objectifs

Comparer l'incidence parasitaire annuelle du paludisme dans les hautes terres centrales de Madagascar, après deux ans de recherche entre la recherche active des cas et l'administration de masse de médicaments autour d'un cas index par rapport à un bras témoin.

Les objectifs secondaires :

- Comparer la prévalence du paludisme par PCR, par une étude transversale dans les hautes terres centrales de Madagascar après deux ans de RAC et AMMi comparé à un bras témoin.
- Evaluer et comparer les coûts de la mise en œuvre des deux approches : RAC et AMMi
- Estimer la proportion des infections de paludisme qui seraient manquées par criblage avec TDR, par opposition à un outil de diagnostic plus sensible tel que la PCR
- Évaluer la faisabilité et acceptabilité de la RCD et AMMi
- Évaluer la sécurité de la faible dose de Primaquine par la mesure du taux d'hémoglobine après la prise à J0 (avant la prise de LDPQ), à J3 et à J7
- Déterminer la performance du diagnostic rapide de G6PD sur les conditions de terrain

## III. Méthodes

Un essai clinique en cluster randomisé avec deux bras d'intervention et un bras témoin sera mis en place. Sur une période de deux ans, la mesure continue de l'incidence annuelle du parasite sera effectuée par un système de surveillance renforcée chez environ 195 000 personnes vivant dans 39 clusters (5 000 personne/cluster, chaque cluster représentant le bassin de recrutement d'un Centre de Santé de Base).

A Madagascar, les méthodes de diagnostic du paludisme reposent sur l'utilisation des tests de diagnostic rapide de paludisme (TDR) ou sur la microscopie. Dans notre étude, l'identification d'une personne ayant un test positif au centre de santé (CS) ou chez un agent communautaire (AC) déclenchera soit la RAC soit l'AMMi: dans un délai d'une semaine, le personnel de santé et les agents de santé vont visiter la maison du patient impaludé pour soit : 1) dépister le paludisme chez l'ensemble des membres du ménage et les ménages voisins immédiats et traiter les cas de paludisme confirmés soit 2) administrer des médicaments antipaludiques à l'ensemble de la communauté autour d'un cas index. Nous allons par la suite comparer l'efficacité de chaque approche à un groupe témoin composé d'un ensemble de village (troisième bras) chez qui on effectuera la détection passive des cas de paludisme et la prise en charge par les agents communautaires et établissements de santé selon la politique nationale de lutte contre le paludisme.

L'incidence annuelle du parasite (IAP), critère d'évaluation principal, sera estimée grâce à un système de surveillance du paludisme améliorée tant au niveau communautaire (AC) qu'au niveau des formations sanitaires. L'utilisation de smartphones Android contribuera à l'amélioration du système de surveillance, ainsi que la formation et le suivi des stocks disponibles des TDR et ACTs.

Afin d'estimer les variations du réservoir de parasite, une « prévalence communautaire du paludisme par PCR » sera déterminée sur un échantillon aléatoire de personnes consentantes vivant à moins de 5 km des centres de santé de base de l'essai (clusters). Cet échantillonnage sera réalisé à l'année 0, et sera répété pour les années 1 et 2. Des échantillons de sang seront ainsi collectés pour la PCR.

Au cours de l'étude, tous les individus dans le bras 1 avec des TDR positifs seront traités par la combinaison artésunate + amodiaquine suivant la recommandation de la politique national de lutte contre le paludisme et par de la primaquine en dose unique (0,25 mg / kg, LDPQ), selon les recommandations de l'OMS. Ils auront également une évaluation de l'hémoglobinémie à J0, J3 et J7 pour évaluer l'hémoglobinémie après l'administration de la LDPQ. La Primaquine à faible dose étant considérée comme « peu probable à causer une toxicité grave chez les personnes avec déficit en G6PD », la recommandation de l'OMS sur la LDPQ est mentionnée dans le guide de traitement antipaludique à Madagascar. La LDPQ est pourtant déconseillée pendant la grossesse et chez les nourrissons de moins de 1 an. Un suivi du taux d'hémoglobinémie sera réalisé pour les patients mis sous LDPQ dans « la prévalence communautaire du paludisme par PCR » avant traitement (jour 0), à J3 et J7 et dans le bras 1.

Au début de l'étude (année 0, 2016), un système de surveillance renforcée sera mis en place dans les 39 clusters. Une fois établie, une donnée de base sur la prévalence du paludisme en utilisant la PCR sera réalisée pour les trois bras. Au 12<sup>ème</sup> et 24<sup>ème</sup> mois, une étude sur la prévalence du paludisme par PCR et la rentabilité seront comparés entre les 3 bras. La meilleure méthode (RAC ou AMMi) sera proposée au PNLN pour sa mise en œuvre dans les zones à faible transmission de plasmodium des hautes terres Centrales.

#### IV. Résultats et discussions

Le protocole a été développé et modifié entre PMI et l'IPM en 2014-2015. Le financement a été accordé en 2014-2015 (acté en 2016).

Le démarrage de l'étude était prévu en fin 2015 et a été décalé en 2016.

#### V. Productions scientifiques

Prévu en 2018

## i-CCM

## Evaluation économique de l'intégration du diagnostic et du traitement de la pneumonie dans la prise en charge communautaire du paludisme

Correspondant :

**Marilys RAZAKAMANANA**Email : [marilys@pasteur.mg](mailto:marilys@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction

19/04/2016

Lieux des travaux

Région SAVA

Budget total

44 385 USD

Co-investigateurs IPM

- **Marilys RAZAKAMANANA**, unité d'épidémiologie, [marilys@pasteur.mg](mailto:marilys@pasteur.mg)- **Aina HARIMANANA**, unité d'épidémiologie, [aharim@pasteur.mg](mailto:aharim@pasteur.mg)- **Patrice PIOLA**, unité d'épidémiologie, [ppiola@pasteur.mg](mailto:ppiola@pasteur.mg)

Co-investigateur hors IPM

- **Maria MONTSERRAT**, Chef d'Unité santé maternelle et infantile, UNICEFDate début : **01/05/2014** Date fin : **31/12/2016** Durée (mois) : **31**

Financements :

**UNICEF (accord de convention du 10 juillet 2014, renouvelé le 17 novembre 2015)**Mots clés : **coût-efficacité, pneumonie, paludisme, prise en charge communautaire**

## I. Contexte et justification

Madagascar a considérablement progressé dans la réduction de la mortalité infantile. En effet, le décès des enfants de moins de 5 ans est passé de 109,2 pour 1000 naissances vivantes en 2000 à 53,4 pour 1000 naissances vivantes en 2013 (World Development Indicators, 2015). Toutefois, malgré cette amélioration, le taux de mortalité reste élevé. En France par exemple, ce taux est de 4,4 pour 1000 naissances vivantes, à Maurice, il est de 14,3 et le plus faible étant de 2,8, cas du Norvège, la moyenne mondiale étant de 45,6 pour 1000 naissances vivantes en 2013 (World Development Indicators, 2015).

A Madagascar, le paludisme, la pneumonie et la diarrhée constituent encore les principales causes de décès des enfants. Ensemble, ces trois maladies représentent 34% des décès chez les enfants de 1 à 59 mois (OMS, 2013). Or, une grande proportion de ces décès peut être évitée par des interventions préventives et curatives. Outre les efforts de prévention, offrir un traitement rapide et approprié pourrait sensiblement réduire le taux de mortalité des enfants de moins de 5 ans. Cependant, en milieu rural, en raison de l'éloignement géographique des centres de santé, du manque de personnel médical et de moyens financiers, l'accès aux soins demeure difficile.

Face à cette situation, la prise en charge communautaire intégrée des cas (« integrated Community Case Management » ou iCCM) a été proposée comme une stratégie pour pallier ce problème. Il s'agit de rendre un agent communautaire (AC) capable de diagnostiquer et de traiter certaines maladies de l'enfance en lui offrant une formation de base, en le dotant d'outils et d'intrants ainsi qu'en assurant une supervision adéquate de celui-ci. Au niveau communautaire, les cas de paludisme simple sont diagnostiqués à l'aide d'un Test de Diagnostic Rapide (TDR), les cas positifs sont immédiatement traités avec de

l'«Artemisinin-based Combination Therapy » (ACT) et les cas de paludisme grave sont référés auprès des CSB. Les cas de pneumonie simple quant à eux sont traités avec de l'antibiotique Cotrimoxazole et les cas de diarrhée simple, avec une combinaison Zinc-SRO (solution de réhydratation orale). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2012), cette stratégie permettrait de réduire le taux de mortalité notamment celui des enfants de moins de 5 ans. D'où la décision de l'OMS et du Fonds des Nations Unies pour l'enfance (UNICEF) à promouvoir la Prise en Charge Intégrée de la Maladie des Enfants au niveau Communautaire (PCIMEc) permettant ainsi la prise en charge des cas simples du paludisme, de la pneumonie et de la diarrhée. A Madagascar, la PCIMEc est déjà mise en place dans les vingt-deux régions. En 2011, les AC ont été formés sur la prise en charge du paludisme, de la pneumonie et de la diarrhée. Ainsi, en 2012, 34 000 AC répartis dans 17 000 *fokontany* ou sites communautaires ont été formés dans le pays (Rapport annuel PNL 2012). Cependant, dès la fin de 2012, comme dans le cas de plusieurs pays en développement qui ont adopté le programme PCIMEc, un dysfonctionnement de ce programme dû aux ruptures fréquentes des intrants au niveau des sites, principalement pour le traitement de la diarrhée et de la pneumonie a été perceptible (Rapport annuel PNL 2012).

Comme la pneumonie constitue la première cause de mortalité des enfants de moins de 5 ans dans l'île (Ministère de la Santé Publique, Statistique sanitaire, 2012), un renforcement du programme PCIMEc déjà mis en place, a été décidé.

Ce projet mis en œuvre par l'UNICEF en février 2014 consiste à doter les AC d'un ARI-timer (« Acute Respiratory Infections timer ») pour détecter les cas de pneumonie et de boîtes d'Amoxicilline-DT, médicaments essentiels pour la prise en charge de cette maladie. Les compétences des AC ont également été renforcées grâce aux formations, suivi-formatifs et remises à niveau de ceux-ci. Ce projet pilote est mené à Andapa et Antalaha, deux des quatre districts de la région SAVA.

## II. Objectifs

- Estimer les coûts de l'intégration du diagnostic et du traitement de la pneumonie dans le programme PCIMEc
- Evaluer le coût de la mise à l'échelle
- Faire une analyse coût-efficacité du projet

## III. Méthodes

Deux districts de la région de SAVA sont concernés par ce projet: Andapa et Antalaha.

Le projet adopte les deux scénarii suivants pour chaque district :

- Scénario 1, pour le district d'Andapa, où l'ensemble des activités se résument à la formation de base des AC au mois de février 2014, à la suite de laquelle, chaque site communautaire (2 AC) a été doté en outils de gestion et en lot de démarrage composé d'un ARI-timer et de 2 boîtes d'Amoxicilline-DT de 250 mg. Chaque boîte contient 100 comprimés.
- Scénario 2, pour le district d'Antalaha, où l'on a administré le scénario 1 renforcé par d'autres activités telles que le renforcement du système d'approvisionnement des médicaments, les suivis formatifs, les remises à niveau et les visites à domicile.

Le district de Sambava a été pris comme district témoin (zone de contrôle).

Pour l'évaluation proprement dite, d'abord une analyse du volet offre et une autre du volet demande ont été faites. L'analyse relative au volet offre consiste à :

- Evaluer les coûts directs du projet c'est-à-dire les coûts de l'intervention sur l'offre et les coûts de l'intervention sur la demande. Les coûts de l'intervention sur l'offre sont les coûts des activités dont bénéficient les fournisseurs de services et de soins : les formations, les supervisions, les suivis formatifs, les remises à niveau, les intrants, .... Les coûts de l'intervention sur la demande sont les coûts des activités dont bénéficient les demandeurs de soins c'est-à-dire les ménages et la communauté: les mobilisations communautaires, les visites à domiciles, ...
- Evaluer les coûts indirects ou coûts économiques : ce sont les pertes de temps consacrés à la mise en œuvre du projet. Nous utiliserons les questionnaires validés par le MINSAN et par les partenaires techniques et financiers.
- Evaluer les coûts totaux qui sont l'ensemble des coûts directs et indirects.

L'analyse concernant le volet « demande » consiste à :

- Evaluer les dépenses engagées par les ménages en cas de paludisme si le recours se fait au niveau des CSB
- Evaluer les dépenses engagées par les ménages en cas de paludisme si le recours se fait au niveau des AC
- Evaluer les dépenses engagées par les ménages en cas de pneumonie si le recours se fait au niveau des CSB
- Evaluer les dépenses engagées par les ménages en cas de pneumonie si le recours se fait au niveau des AC.

Pour l'évaluation des avantages du projet pour les ménages nous comparerons les dépenses engagées par ceux-ci quand ils font recours aux CSB ou quand ils font recours aux AC. Les avantages du projet se traduiront par la différence des coûts. Pour ce faire, 975 ménages et 3600 individus ont été enquêtés.

Le rapport coût-efficacité (RCE) sera ensuite déterminé. L'efficacité sera traduite par la différence entre le nombre de cas pris en charge par les AC avant la mise en œuvre du programme et le nombre de cas pris en charge par les AC une fois le programme approprié par les différentes personnes cibles. Les responsables du projet ont déterminé une date t1 à laquelle la communauté devrait être capable de s'approprier le projet. Le nombre de cas pris en charge enregistrés avant la mise en œuvre du projet t0 est le nombre de cas enregistré en février 2014 à comparer avec celui enregistré en t1. Ainsi, l'on saura le nombre de cas supplémentaires traités par les AC.

$$RCE = \frac{Coûttotal}{nbcast_1 - nbcast_0}$$

Comme ces informations ne sont pas suffisantes pour pouvoir mesurer la rentabilité de l'intervention, nous nous sommes basés sur les critères indiqués par la Commission Macroéconomie et Santé (OMS, 2002). Selon cette institution, une intervention est très rentable si le RCE est inférieur au PIB par habitant. Elle est moyennement rentable lorsqu'elle est égale au PIB par habitant ou est trois fois plus élevée que ce dernier. Enfin, au-delà de trois fois plus que le PIB par habitant, elle n'est pas rentable. Dans ce dernier cas, il faudrait réviser l'intervention ou allouer les ressources à d'autres programmes de santé.

#### IV. Résultats intermédiaires et discussion (non complète)

Le premier cas (I) représente le coût réel du projet. Tout déboursement effectué dans le cadre du projet a été considéré dans l'évaluation de ce coût total. Le deuxième cas (II) représente le cas si les ressources avaient été utilisées de manière optimale.

Tableau 1: Coût total et coût moyen du projet en USD

	Andapa		Antalaha	
	(I)	(II)	(I)	(II)
Coûts				
<b>Coûts relatifs à l'intervention sur l'offre</b>		37 418,00		107 381,36
<b>Coûts relatifs à l'intervention sur la demande</b>		0		3 323,42
<b>Coûts des intrants</b>	95 368,79	70 869,13	128 859,41	104 524,62
<b>Coût direct de redéploiement</b>	919,75	-	570,25	-
<b>Coûts économiques</b>	27 490,54	27 447,29	85 021,17	84 971,99
<b>Total</b>	<b>161 197,08</b>	<b>135 734,42</b>	<b>325 155,61</b>	<b>300 201,39</b>
<b>Nombre d'AC formés</b>		306		396
<b>Nombre d'enfants cibles</b>		13 123		4 094
<b>Coût moyen/AC</b>	526,79	443,58	821,10	758,08
<b>Coût moyen/enfant cible</b>	12,28	10,34	79,42	73,33

Le coût de redéploiement est le coût du transport de la quantité d'Amoxicilline-DT en surstock. Pour l'estimation des coûts économiques, dans le cas 1, est incluse la valeur du temps perdu afin de redéployer la quantité en surstock.

Le coût des interventions est 7 fois plus élevé à Antalaha (scénario 2) qu'à Andapa (scénario 1). S'il n'y avait pas eu un gaspillage, le système aurait pu éviter une perte de 1,9 USD par enfant cible pour le cas d'Andapa et 6,1 USD par enfant cible pour le cas d'Antalaha.

Les résultats sur l'analyse coût-efficacité ne sont pas encore disponibles.

#### V. Impacts

Cette étude permettra d'évaluer le coût de la mise à l'échelle de l'intégration du diagnostic et du traitement de la pneumonie dans la prise en charge communautaire du paludisme.

## VI. Productions scientifiques

### VI.1. Communications orales

- Marilys Razakamanana (25 novembre 2014) : « Présentation des outils de l'évaluation économique du projet d'intégration du diagnostic et du traitement de la pneumonie dans la prise en charge communautaire du paludisme », Hotel Palissandre Antananarivo.
- Marilys Razakamanana (Août 2015 et janvier 2016) : « Présentation des résultats intermédiaires de l'évaluation économique du projet d'intégration du diagnostic et du traitement de la pneumonie dans la prise en charge communautaire du paludisme », DRSP SAVA Sambava

## IMI-CystiDiag

Diagnostic de la Cysticercose à Madagascar : Développement et validation de tests de diagnostic moléculaires (LAMP-Cysti) et sérologiques (Sero-Cysti) pour la cysticercose Humaine et porcine

Correspondant :

**Inès VIGAN-WOMAS**

Email : [ines@pasteur.mg](mailto:ines@pasteur.mg)

Tél : **+261 20 22 412 72**

**Anjanirina RAHANTAMALALA**

Email : [anjanirina@pasteur.mg](mailto:anjanirina@pasteur.mg)

Tél : **+261 20 22 412 72**

Co-investigateur IPM

- **Frédérique RANDRIANIRINA**, centre de biologie clinique, [frederique@pasteur.mg](mailto:frederique@pasteur.mg)
- **Prisca RAMANDANIRAINY**, unité d'immunologie des maladies infectieuses, [rprisca@pasteur.mg](mailto:rprisca@pasteur.mg)

Co-investigateurs hors IPM

- **Alain Djacoba TEHINDRAZANARIVELO**, Service de Neuro-psychiatrie, Hôpital de Befelatanana, Madagascar
- **Julien RAZAFIMAHEFA**, Service de Neuro-psychiatrie, Hôpital de Befelatanana, Madagascar
- **Francesca BISIO**, Hôpital d'Ambovombe, Madagascar
- **Vincent PORPHYRE**, CIRAD St Pierre, La Réunion
- **FOFIFA-DRZV**, Département de Recherches Zootechniques et Vétérinaires, Madagascar
- **DSV**, Direction des Services Vétérinaires, Madagascar

Date début : **1/11/2012**

Date fin : **31/12/2017**

Durée : **5 ans**

Financements :

- **Grant Dedonder Clayton**, Projet Cysti-LAMP, Division International, IPP
- **Projet QualiREG** – CIRAD La Réunion
- **Projet PARRUR** – SCAC – Ambassade de France

Mots clés : **Taenia solium, cysticercose, neurocysticercose (NCC), LAMP, protéine recombinante, réponses immunes, tests de diagnostic rapide (TDR), sérologie**

Date de rédaction

28/02/2016

Lieux des travaux

Madagascar

Budget total

Cysti-LAMP : 14 890 €

QualiREG : 23 500 €

PARRUR : 32 000 €

## I. Contexte et justification

L'homme est le seul hôte définitif connu du ver solitaire (*Taenia solium*) responsable de la téniasis humaine. La cysticercose chez l'homme est due à l'ingestion des œufs de *T. solium* contenus dans les excréments humains contaminant les mains et les aliments. A Madagascar, plus de 15% de la population est touchée par cette maladie. La neurocysticercose (NCC) est la plus fréquente des parasitoses du système nerveux central et constitue la forme la plus grave de cette pathologie. Elle est également la première cause des crises épileptiques dans les pays tropicaux. La cysticercose porcine a un impact sanitaire et économique majeur. Les données récentes obtenues à Madagascar estiment à 21% la prévalence de la cysticercose porcine à Madagascar (Porphyre V. et al, Parasites et Vectors, 2015).

Beaucoup d'efforts ont été déployés à l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) ces quinze dernières années pour développer et valider des outils de diagnostic pour la cysticercose et la NCC. L'ELISA et le Western Blot (ou EITB) constituent les principales techniques de diagnostic sérologique. En accord avec l'équipe de Tsang et al., du "Centers for Disease Control and Prevention", CDC – Atlanta, l'EITB utilisant des glycoprotéines totales purifiées sur résine de Concanavaleine A est la technique sérologique de référence utilisée à l'IPM. En effet, des études ont montré que, les réactivités immunes détectées par EITB contre les glycoprotéines de cysticercques de *T. solium* ayant une masse moléculaire de 13-14 kilodaltons, sont associées à une cysticercose humaine active. En ce qui concerne la NCC, son diagnostic repose principalement sur le scanner. Mais à Madagascar, le scanner n'est disponible que dans la capitale et reste d'un coût inaccessible au plus grand nombre. Ainsi le traitement de la NCC est habituellement proposé sans aucune confirmation de diagnostic.

Toutes les techniques actuellement disponibles pour le diagnostic de la cysticercose (ELISA, EITB, RT-PCR) nécessitent qu'elles soient réalisées en laboratoire car elles requièrent des équipements, des réactifs et des consommables spécifiques.

## II. Objectifs

Dans ce contexte, l'objectif de ce projet de recherche est de développer des outils de diagnostic performants et utilisables directement par les éleveurs ou au chevet des patients afin d'améliorer le diagnostic de la cysticercose et de la NCC à Madagascar. Les objectifs plus spécifiques concernent :

- la mise au point et la validation d'une technique simple de diagnostic moléculaire par amplification isothermale de l'ADN (LAMP ou "Loop-mediated isothermal amplification") pour la détection de la NCC à partir du Liquide céphalo-rachidien (LCR) : **Projet LAMP-Cysti**
- le développement et la validation d'un test de diagnostic sérologique plus sensible et plus spécifique en utilisant des protéines recombinantes de cysticercques produites chez la bactérie *E. coli*. Ces tests pourraient être utilisés à la fois pour le diagnostic de la cysticercose Humaine et porcine : **Projet Séro-Cysti**
- la validation de ces tests dans des centres de santé de base et au niveau des élevages de porcs
- l'étude de la prévalence réelle de la téniasis/cysticercose à Madagascar afin de guider la mise en place de stratégies de lutte et de traitements efficaces.

### III. Méthodes

Après une formation sur la technique LAMP au sein du laboratoire des maladies parasitaires (NIH – Bethesda) et un transfert de cette technique à l'IPM, une mise au point de la LAMP en ciblant le gène de la Cytochrome C oxidase *cox1* est en cours de validation. Cette technique permet une amplification spécifique du gène *cox1* des cysticerques de *T. solium* sans extraction d'ADN du LCR des patients.

Cinq protéines du liquide de cysticerques de *T. solium* qui jouent un rôle majeur dans le diagnostic de la cysticercose Humaine et porcine (GP50, GP24, GP18, GP13/14 et GP8) devraient être produites sous forme de protéines recombinantes solubles. Ces protéines permettraient d'analyser plus finement la présence d'anticorps anti-*T. solium* dans le sérum ou le LCR de sujets vivants en zone d'endémie. Elles seraient aussi utilisées pour la mise au point de tests de diagnostic pour la cysticercose porcine.

Ces tests seront validés à partir d'une bibliothèque de LCR et de sérums provenant du centre de biologie clinique de l'IPM, du service de neurologie de l'hôpital de Befelatanana et de l'hôpital d'Ambovombe. En collaboration avec la Direction des Services Vétérinaires (DSV), une sérothèque de porc atteints ou non de cysticercose sera constituée. Pour finir, ces nouveaux outils seront directement implémentés sur le terrain lors d'études pilotes.

### IV. Résultats et discussions

Pour le diagnostic moléculaire, le test "LAMP-Cysti" a été mis au point en utilisant de l'ADN extrait des cysticerques de *T. solium*. Des tests d'optimisation sont en cours afin de réduire la durée d'amplification et passer ainsi de 2 heures à 45 minutes. En utilisant directement les LCR préalablement chauffés sans extraction d'ADN, les tests de sensibilité montrent que la LAMP-Cox1 (1) permet de confirmer les résultats obtenus avec les techniques de référence (EITB, ELISA) et (2) est aussi sensible que la RT-PCR. La validation de cette technique sera réalisée en utilisant une banque de LCR obtenue de nos collaborateurs hospitaliers. Des tests de spécificité seront également effectués.

Pour le diagnostic sérologique, trois antigènes majeurs de la membrane de cysticerques (GP8V2, GP14 et GP18) ont été produits sous forme de protéines recombinantes solubles. La pureté et les quantités obtenues (environ 2-3 mg protéines par litre de culture bactérienne) permettent de réaliser des tests de validation (antigénicité, spécificité et sensibilité) en utilisant des bibliothèques porcine (sérums) et humaine (LCR et sérums). Nos résultats préliminaires montrent que les protéines GP14 et GP18 sont reconnues par des sérums de porc et d'humains atteints de cysticercose. Des mises au point seront poursuivies pour développer de(s) test(s) de diagnostic rapide(s) [ELISA, Western Blot et tests immunochromatographiques].

A part le volet recherche, le financement de ce projet a permis également de réaliser des supports de sensibilisation (dépliants, carnet de sensibilisation, formation villageoise, spots et reportage télévisés). Leur évaluation est réalisée dans le cadre d'un stage de fin d'étude d'une thèse vétérinaire. Les résultats de cette étude sont en cours d'analyse.

## V. Impacts

Après validation, ces nouvelles méthodes de diagnostic devraient permettre d'améliorer le diagnostic et la prise en charge des patients atteints de cysticercose/neurocysticercose, et ce, en l'absence de scanner cérébral. Ces tests de diagnostic permettraient également de contrôler la cysticercose à Madagascar par une approche combinée humaine et vétérinaire pour interrompre le cycle de la maladie et seraient utiles pour évaluer l'efficacité des mesures de lutte anti-téniasis déployées au niveau des zones d'endémies.

## VI. Productions scientifiques

### VI.1. Communications orales ou affichées

- Ramandanirainy P, Rahantamalala A, Nativel P, Randriantsoa D, Rakotondrazaka M, Randrianasolo N, Ramiandrisoa S, Rabeniary A, Vincent Porphyre, Harena Rasamoelina-Andriamanivo, Ronan Jambou, Inès Vigan-Womas. Development of serological tools for the "point-of-care" diagnostic and control of cysticercosis in Madagascar.
  - Scientific Symposium of the Institut Pasteur International Network 2015, 14 -16 Octobre 2015 l'Institut Pasteur à Paris.
  - 3<sup>ème</sup> journée du Réseau SEGA One Health, sur la veille sanitaire dans l'Océan Indien, 26 -27 Octobre 2015 à Maurice.

## IMI-LeptoDiag

## Diagnostic sérologique de la leptospirose Humaine à Madagascar

Correspondant :

Inès VIGAN-WOMAS

Email : [ines@pasteur.mg](mailto:ines@pasteur.mg)

Tél : +261 20 22 412 72

Date de rédaction

28/02/2016

Lieux des travaux

IP Madagascar

IP Paris

CHU de la Réunion

Co-investigateur IPM

- Niry RABENINDRINA, unité d'immunologie des maladies infectieuses, [rniry@pasteur.mg](mailto:rniry@pasteur.mg)

- Minoarisoa RAJERISON, unité peste, [mino@pasteur.mg](mailto:mino@pasteur.mg)

- Soanandrasana RAHELINIRINA, unité peste, [raheli@pasteur.mg](mailto:raheli@pasteur.mg)

Budget total

ValoExpress : 32 000 €

Wellcome Trust : 5 000 €

ACIP-Lepto : 21 800 €

IRCOD : 20 000 €

Co-investigateurs hors IPM

- Pascale BOURHY, CNR Leptospirose, IP Paris, [pbourhy@pasteur.fr](mailto:pbourhy@pasteur.fr)

- CHU de Saint-Pierre - La Réunion

- Sandra TELFER Université Abadeen, Wellcome Trust, [s.telfer@abdn.ac.uk](mailto:s.telfer@abdn.ac.uk)

Date début : 1/09/2013

Date fin : 31/12/2016

Durée : 3 ans

Financements :

- ValoExpress, IPP

- Wellcome Trust (Fellowship 2011-2016)

- Ambassade de Suisse

- Division Internationale, ACIP-Leptospirose, IP Paris

- Institut Régional de Coopération-Développement (IRCOD), Madagascar

Mots clés : Leptospirose, tests de diagnostic Immuno-Chromatographique (ICT)

## I. Contexte et justification

La leptospirose est une anthroponose bactérienne due à des bactéries pathogènes du genre *Leptospira* et de l'espèce *Leptospira interrogans*. La prévalence mondiale de la Leptospirose est estimée à 1,7 millions de cas/an avec un taux de mortalité pouvant atteindre 20% (OMS, 2012). Le réservoir animal est très diversifié, et outre les rongeurs (rats, souris) et les insectivores, il comprend aussi des animaux domestiques (chiens) et d'élevage (bovins, porcs). Tous ces animaux disséminent des leptospires par voie urinaire et les bactéries peuvent survivre longtemps en eau douce (rivières et les lacs). Les rats, excréant de fortes concentrations de leptospires dans leurs urines pendant des mois après leur infection initiale, sont considérés comme le principal réservoir (Evangelista et Coburn, 2010). Les zones humides sont des zones à risque de contamination et la transmission humaine est le plus souvent indirecte par l'eau ou la boue contaminée par des urines d'animaux infectés. Chez l'Homme, les symptômes de la leptospirose sont peu spécifiques en début de maladie et rendent le diagnostic clinique différentiel difficile car ils

sont proches d'autres pathologies telles que la dengue, le paludisme, la fièvre Q ou la grippe. De nombreuses formes cliniques, allant du syndrome grippal à l'atteinte multiviscérale avec syndrome hémorragique sont décrites. Chez le bétail, les signes cliniques le plus souvent rencontrés sont liés à des troubles de la reproduction (mort-nés, infertilité et les avortements). Chez l'homme, la leptospirose est ainsi fréquemment une maladie professionnelle, affectant principalement les fermiers, les travailleurs des abattoirs, les éboueurs, les animaliers, les vétérinaires, les collecteurs de rongeurs et les égoutiers (Hartskeel et al, 2011). A Madagascar où les zébus participent au travail dans la rizière, leur rôle comme réservoir pourrait être majeur.

Le test de référence pour le diagnostic de la leptospirose est le MAT (Micro-Agglutination Test). C'est un test très spécifique nécessitant de faire réagir le sérum des patients sur un panel de leptospires maintenues en culture. Il n'est réalisé que dans très peu de laboratoires dont le Centre National de Référence de la Leptospirose (CNRL) à l'Institut Pasteur à Paris. Le CNRL, a développé un nouvel antigène (*Leptospira fainei* serovar Hurstbridge) ayant une large communauté antigénique avec les différents sérogroupes de leptospires. Cet antigène est utilisé en routine depuis plusieurs années dans un test ELISA IgM (sensibilité de 94%, spécificité de 99%).

## II. Objectifs

- Développer un test de diagnostic de type immuno-chromatographique (ICT, bandelettes réactives) pour la détection des IgM anti-Leptospires chez l'homme en utilisant l'antigène (*Leptospira fainei* serovar Hurstbridge),
- Adapter ces tests sérologiques (ELISA et ICT) à la détection d'IgG chez l'homme mais aussi chez l'animal pour permettre la réalisation d'études séro-épidémiologiques en zone de transmission,
- Mener, à Madagascar, des enquêtes de séroprévalence dans des populations à risques telles que les éboueurs et les éleveurs de zébus.

## III. Méthodes

La première partie de ce projet consiste à mettre en place dans l'Unité d'immunologie des maladies infectieuses, d'une part la production de l'antigène *Leptospira fainei* serovar Hurstbridge et d'autre part, la fabrication de tests de diagnostic immuno-chromatographique. Cette mise en place sera réalisée *via* un cycle de formation et de transfert de technologie entre le CNRL et l'Unité. L'antigène *Leptospira* sera également utilisé pour analyser les réponses immunes humorales (IgM et IgG) par ELISA.

## IV. Résultats et discussions

La production de l'antigène *Leptospira fainei* serovar Hurstbridge a été mise en place au laboratoire. Le processus de production et la qualité de l'antigène sont en cours de validation par le CNRL. Parallèlement, en utilisant différents lots d'antigène produit par le CNRL, une série de 2500 bandelettes permettant de détecter les IgM anti-Leptospires chez l'homme a été réalisée. Ces lots ont permis de valider un certain nombre de critères essentiels pour le développement et la production de ce test à l'IP Madagascar (stabilité des bandelettes, répétabilité de résultats obtenus sur des lots de fabrication différents, reproductibilité des résultats). Les tests de stabilité, sensibilité et spécificité réalisés à la fois au CNRL et à l'IP Madagascar montrent que ces tests sont très stables après conservation à 4°C pendant 3 à 6 mois et à 40°C pendant 6 semaines. Ces tests diagnostiques sont en cours de validation sur plusieurs sites distincts à savoir

les CHU de Saint Pierre – La Réunion et de Mayotte. Les ELISA permettant de détecter à la fois les IgM et les IgG ont été mis au point, et les sérums d'individus à risque pour la Leptospirose (éboueurs et éleveurs) sont en cours d'analyse (Projet ACIP-Leptospirose, IRCOD et Wellcome Trust).

## V. Impacts

Ce travail vise à proposer des tests de diagnostic simples et fiables (ELISA et ICT) pour le séro-diagnostic de la Leptospirose afin de mieux connaître la prévalence de cette maladie, et d'améliorer la prise en charge des patients.

## IMI-PaluSéro

Le Paludisme à Madagascar : mesure de l'impact des mesures de lutte antipaludique et des changements épidémiologiques sur la transmission et le réservoir

Correspondant :

**Inès VIGAN-WOMAS**

Email : [ines@pasteur.mg](mailto:ines@pasteur.mg)

Tél : **+261 20 22 412 72**

Co-investigateurs IPM

- **Christophe ROGIER**, directeur, [crogier@pasteur.mg](mailto:crogier@pasteur.mg)
- **Milijaona RANDRIANARIVELOJOSIA**, unité paludisme, [milijaon@pasteur.mg](mailto:milijaon@pasteur.mg)
- **Patrice PIOLA**, unité d'épidémiologie, [ppiola@pasteur.mg](mailto:ppiola@pasteur.mg)
- **Ronan JAMBOU**, Ex-unité immunologie, [ronan.jambou@pasteur.fr](mailto:ronan.jambou@pasteur.fr)
- **Thomas KESTEMAN**, unité paludisme, [thomask@pasteur.mg](mailto:thomask@pasteur.mg)
- **Ismaël CHAKIR**, unité d'immunologie des maladies infectieuses, [chakir@pasteur.mg](mailto:chakir@pasteur.mg)
- **Jean-Marius RAKOTONDRAMANGA**, unité d'épidémiologie, [rjmarius@pasteur.mg](mailto:rjmarius@pasteur.mg)
- **Elisabeth RAVAOARISOA**, unité paludisme, [elisa@pasteur.mg](mailto:elisa@pasteur.mg)
- **Emma RAKOTOMALALA**, unité d'immunologie des maladies infectieuses, [emma@pasteur.mg](mailto:emma@pasteur.mg)
- **Aina HARIMANANA**, unité d'épidémiologie, [aina@pasteur.mg](mailto:aina@pasteur.mg)
- **Tsikiniaina RASOLOHARIMANANA**, unité d'immunologie des maladies infectieuses, [tsiky@pasteur.mg](mailto:tsiky@pasteur.mg)

Co-investigateurs hors IPM

- **Odile PUIJALON**, unité immunologie moléculaire des parasites, Institut Pasteur, Paris (IPP).
- **Ronald PERRAUT**, unité immunologie, Institut Pasteur de Dakar (IPD).
- **André OFFIANAN**, unité paludisme, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI).
- **Consortium PALEVALUT**, Institut de Recherche pour le Développement au Bénin (IRD), Institut Pierre Richet de Bouaké (IPCI), Centre Pasteur du Cameroun (CPC), Centre de Recherche Médicale et Sanitaire du Niger (CERMES)
- **Laura STEINHARDT**, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta

Date début : **10/10/2012**

Date fin : **31/12/2017**

Durée : **5 ans**

Financements :

Date de rédaction

28/01/2016

Lieux des travaux

IP Madagascar

IP Dakar

IP Paris

IP Côte d'Ivoire

IRD Bénin

IP Cameroun

CERMES Niger

Budget total

ACIP : 51 800 €

MEDALI : 100 000 €

PALEVALUT : 25 000 €

USAID/CDC : 280 000 €

## IMI-PaluSéro

Le Paludisme à Madagascar : mesure de l'impact des mesures de lutte antipaludique et des changements épidémiologiques sur la transmission et le réservoir

- **Division International**, IPP, projet "ACIP-Multiplex"
- **Fonds Mondial** "Initiative 5% Sida, Tuberculose, Paludisme"

France Expertise International (FEI), **projets MEDALI et PALEVALUT**

- **PMI/USAID/CDC**, projet "School-Based Malaria Survey"

Mots clés : **Paludisme, transmission, réponses immunes humorales, multiplex, bio-marqueurs sérologiques, efficacité des mesures de lutte**

## I. Contexte et justification

Au cours des dix dernières années, l'accroissement des moyens alloués à la lutte contre le paludisme a entraîné une diminution notable de la mortalité et de la morbidité palustre dans de nombreux pays (World Malaria Report, 2011-2015, Murray *et al.*, 2012). Toutefois, après plusieurs années successives de baisse, on assiste depuis 2010 à une recrudescence du paludisme dans plusieurs pays (World Malaria Report, 2010-2015), indiquant que les mesures de lutte actuelles ont atteint leurs limites. A Madagascar, les trois dernières années ont été marquées par une recrudescence des cas de paludisme à *Plasmodium falciparum* et à *Plasmodium vivax* touchant toutes les classes d'âges.

Ces épidémies soulignent une fois de plus la fragilité des acquis de la lutte antipaludique qui y avait été menée intensivement depuis 2010. Comment les mesures de luttés et les changements épidémiologiques qui en découlent influent sur la morbidité/mortalité palustre, sur le portage parasitaire et la transmission ? Quelle est l'efficacité réelle des différentes mesures de lutte (distributions de moustiquaires imprégnées, pulvérisations intra-domiciliaires d'insecticides à effet rémanent, utilisation de tests de diagnostic rapide et de combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine ? Quels sont facteurs interférant avec l'efficacité des interventions ? Ce sont autant de questions qu'il faut explorer afin de guider efficacement la mise en œuvre des stratégies nationales de lutte contre le paludisme.

## II. Objectifs

Les différents projets de recherche associés à ce programme ont pour objectifs de développer les outils/techniques nécessaires et d'apporter les connaissances permettant de **i)** comprendre comment la baisse de la transmission influence les réponses immunes des populations exposées et le risque de contracter des formes graves du paludisme [projet ACIP-Multiplex] **ii)** d'assurer un meilleur suivi de l'impact des programmes de lutte antipaludique en termes de nombre de cas (infections, maladies et décès) évités dans les différents contextes épidémiologiques [projet MEDALI, PALEVALUT et SBS] et **iii)** de guider la formulation de nouvelles stratégies d'intervention. Ce programme de recherche multicentrique est mené en étroite collaboration avec les unités paludisme, épidémiologie et immunologie de l'IPM, mais aussi avec les partenaires locaux (Ministère de la Santé et PNLP) et internationaux (IRD, Institut Pasteur à Paris, Réseau International des instituts Pasteur, Centers for Disease Control and Prevention", CDC – Atlanta).

### III. Méthodes

Développer un jeu de bio-marqueurs (antigènes, cytokines) permettant de suivre l'évolution des réponses immunes anti-plasmodium.

Il s'agit de mettre en place à l'IPM et dans les différents instituts de recherche associés un essai standardisé permettant d'analyser, de façon qualitative et quantitative, les réponses humorales contre un panel d'antigènes parasitaires en utilisant la dernière génération de système de multiplexage le MAGPIX (Luminex Corp.). Pour ce faire, un panel "à façon" comprenant des antigènes pré-érythrocytaires et érythrocytaires de *P. falciparum* (candidats vaccins inclus dans des essais vaccinaux en cours tels que la CSP, MSP1, AMA1 et LSA3), des antigènes impliqués dans la cytoadhérence parasitaire (adhésines PfEMP1) et des antigènes salivaires d'*Anopheles* a été mis en place. Selon les sites d'étude, des antigènes de *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale* seront inclus. Les antigènes testés sont produits sous forme de protéines recombinantes solubles ou de peptides synthétiques. Après une première phase de mise au point des conditions de dosage des anticorps spécifiques et la constitution des standards pour l'étalonnage des dosages, un multiplex multi-antigène et multi-stade parasitaire a été mis au point. Ce multiplex sera validé par des études pilotes réalisées dans chacun des Instituts participants pour explorer les profils immunologiques avant et après la mise en place des mesures de lutte antipaludiques, étude englobant les phases de baisse et de recrudescence en accès palustres.

### IV. Résultats et discussions

Les travaux menés conjointement à l'Institut Pasteur à Paris, l'IPM, l'Institut Pasteur de Dakar et l'Institut Pasteur du Cambodge ont permis de développer et de mettre en place la technique multiplex-MagPix incluant un panel de 15 antigènes de *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. malariae* et un antigène salivaire d'anophèles. A Madagascar, les profils immunologiques contre ce panel d'antigènes ont été analysés sur plus de 11000 échantillons collectés sur l'ensemble du territoire et représentatifs des différents faciès du paludisme à Madagascar (projet MEDALI), sur 4000 prélèvements provenant de deux zones d'endémicité différente (Ankazobe et Brickaville, projet PALEVALUT) et sur 12500 échantillons collectés dans 7 districts des Hautes Terres Centrale et de Marges dans le cadre du projet School-based Malaria Survey. De plus, les suivis longitudinaux sero-épidémiologiques menés dans le village de Saharevo et chez les enfants de la plaine d'Antananarivo (Projet ACIP) devraient permettre d'analyser l'impact des mesures de lutte antipaludiques sur la transmission. L'ensemble des résultats obtenus est en cours d'analyse.

### V. Impacts

Les outils/techniques disponibles devraient permettre de définir un jeu de bio-marqueurs antigéniques permettant de suivre l'évolution des réponses immunes anti-*plasmodium* afin d'assurer un meilleur suivi de l'impact des programmes de lutte anti-paludique.

## VI. Productions scientifiques

### VI.1. Publications

- Kerkhof K, Canier L, Kim S, Heng S, Sochantha T, Sovannaroeth S, Vigan-Womas I, Coosemans M, Sluydts V, Ménard D, Durnez L. Implementation and application of a multiplex assay to detect malaria-specific antibodies: a promising tool for assessing malaria transmission in Southeast Asian pre-elimination areas. *Malar J.* 2015 Sep 4;14(1):338. doi: 10.1186/s12936-015-0868-z. PubMed PMID: 26337785.
- Koffi D, Touré AO, Varela ML, Vigan-Womas I, Béourou S, Brou S, Ehouman MF, Gnamien L, Richard V, Djaman JA, Perraut R. Analysis of antibody profiles in symptomatic malaria in three sentinel sites of Ivory Coast by using multiplex, fluorescent, magnetic, bead-based serological assay (MAGPIX™). *Malar J.* 2015 Dec 21;14:509. doi: 10.1186/s12936-015-1043-2. PubMed PMID: 26692284.
- Perraut R, Varela ML, Mbengue B, Guillotte M, Mercereau-Puijalon O, Vigan-Womas I. Standardization and validation of a multiplex magnetic bead-based for simultaneous detection of IgG to Plasmodium antigens. *J Immunol Tech Infect Dis.* 2015. <http://dx.doi.org/10.4172/2329-9541.1000134>.

### VI.2. Communication orale:

- Vigan-Womas I. Address the new challenges for malaria control in Madagascar. Symposium Fiocruz-Institut Pasteur, 8-9 June 2015 – Oswaldo Cruz Foundation, Brazil. Conférencier Invité.

### VI.3. Communication affichée:

- Steinhardt L, Ravaoarisoa E, Wiegand R, Harimanana A, Hedje J, Cotte A, Zigirumugabe S, Kesteman T, Rasoloharimanana TL, Rakotomalala R, Rakotondramanga JM, Butts J, Rogier C, Piola P, Randrianarivelosia M, Vigan-Womas I. A school-based serology study to validate use of routine data for targeting malaria interventions in the Central Highlands of Madagascar — May–July, 2014. American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH) 64<sup>th</sup> annual meeting. October 25-29, 2015. Philadelphia, USA.

## IMI-PaluVivax

Le Paludisme à *Plasmodium vivax* à Madagascar : Caractérisation des nouvelles voies d'invasion de globules rouges/réticulocytes Duffy-négatif

Correspondant :

Inès VIGAN-WOMAS

Email : [ines@pasteur.mg](mailto:ines@pasteur.mg)

Tél : +261 20 22 412 72

Date de rédaction

28/01/2016

Lieux des travaux

IP Madagascar

IP Paris

IP Cambodge

Budget total

IPalvivaxDuffy : 7 500 €

PTR : 32 460 €

Co-investigateurs IPM

- **Christophe ROGIER**, directeur, [crogier@pasteur.mg](mailto:crogier@pasteur.mg)
- **Milijaona RANDRIANARIVELOJOSIA**, unité paludisme, [milijaon@pasteur.mg](mailto:milijaon@pasteur.mg)
- **Elisabeth RAVAOARISOA**, unité paludisme, [elisa@pasteur.mg](mailto:elisa@pasteur.mg)
- **Frédérique RANDRIANIRINA**, centre de biologie clinique, [frederique@pasteur.mg](mailto:frederique@pasteur.mg)
- **Emma RAKOTOMALALA**, unité d'immunologie des maladies infectieuses, [emma@pasteur.mg](mailto:emma@pasteur.mg)
- **Tsikiniana RASOLOHARIMANANA**, unité d'immunologie des maladies infectieuses, [tsiky@pasteur.mg](mailto:tsiky@pasteur.mg)
- **Zo Tsiferana Juliana ANDRIAMANANTENA**, unité d'immunologie des maladies infectieuses, [atsiferana@pasteur.mg](mailto:atsiferana@pasteur.mg)
- **Rado Lalaina RAKOTOARISON**, unité d'immunologie des maladies infectieuses, [radolal@pasteur.mg](mailto:radolal@pasteur.mg)

Co-investigateurs hors IPM

- **Chetan CHITNIS**, Unité de Biologie de *Plasmodium* et Vaccins, Institut Pasteur à Paris (IPP).
- **Didier MENARD**, Unité d'épidémiologie moléculaire du paludisme, Institut Pasteur du Cambodge (IPC).
- **Jean POPOVICI**, Unité d'épidémiologie moléculaire du paludisme, Institut Pasteur du Cambodge (IPC).
- **Odile PUIJALON**, unité immunologie moléculaire des parasites, Institut Pasteur à Paris (IPP).
- **Olivat RAKOTO**, Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Joseph RAVOAHANGY ANDRIANAVALONA (HJRA), Madagascar
- **Romuald RANDRIAMAHAVONJY**, Maternité de l'Hôpital Militaire d'Antananarivo (HOMI), Madagascar
  - **Hery RAKOTOVAO ANDRIAMPANALINARIVO**, Maternité de l'Hôpital Général de BEFELATANANA, Madagascar

Date début : 01/10/2014

Date fin : 31/12/2017

Durée : 3 ans

## IMI-PaluVivax

Le Paludisme à *Plasmodium vivax* à Madagascar : Caractérisation des nouvelles voies d'invasion de globules rouges/réticulocytes Duffy-négatif

Financements :

- **Projet Interne**, IPM, projet "IPalvivaxDuffy"
- **Programme Transversal de Recherche Pasteurien** (PTR 490), IPP

Mots clés : **Paludisme, *Plasmodium vivax*, adhésines parasitaires, récepteurs globulaires, réticulocytes, antigène Duffy, réponses immunes**

## I. Contexte et justification

Le paludisme reste l'une des principales causes de morbidité et de mortalité dans les régions tropicales et intertropicales du monde. Bien que *Plasmodium falciparum* soit responsable de la grande majorité des cas et des décès dus au paludisme, *P. vivax*, l'espèce la plus répandue géographiquement, est responsable d'un grand nombre de cas et est de plus en plus reconnue comme une cause de paludisme grave et de mortalité. L'Organisation mondiale de la santé (OMS), estime que 2,9 milliards de personnes vivent dans des zones à risque pour *P. vivax* (principalement en Asie et en Amérique latine) avec chaque année 130 à 435 millions de cas de paludisme à *P. vivax* (Gething et al., 2012; Rapport OMS 2013). *P. vivax* est la seconde cause de paludisme à Madagascar (Rapport MIS 2013). Cependant, la prévalence actuelle de cette infection dans l'île reste encore mal connue, avec peu ou pas de données sur la morbidité et la mortalité palustre attribuable à *P. vivax*.

Contrairement à *P. falciparum* qui infecte les globules rouges durant son cycle érythrocytaire, *P. vivax* parasite préférentiellement les réticulocytes. Les premières études sur l'invasion de *P. vivax* suggéraient que l'étape clé de l'invasion de *P. vivax* est médiée par l'interaction spécifique de la **Duffy Binding Protein** (PvDBP), une adhésine de surface du mérozoïte, avec la glycoprotéine du groupe sanguin Duffy-DARC (Miller et al., 1976; Chitnis et al., 2008; Batchelor et al., 2011). De ce fait, les individus n'exprimant pas l'antigène Duffy étaient supposés naturellement résistants à l'infection à *P. vivax* (Miller et al., 1976). Ces observations expliquaient l'apparente absence de *P. vivax* dans la région sub-saharienne de l'Afrique où 90% des individus sont Duffy négatifs. Toutefois, les données récentes de la littérature acquises au Kenya, au Brésil, à Madagascar, en Mauritanie et au Cameroun montrent que *P. vivax* est capable de s'affranchir des barrières génétiques de l'hôte et d'infecter des globules rouges/réticulocytes n'exprimant pas l'antigène Duffy (Ryan et al., 2006; Cavasini et al., 2007; Ménard et al., 2010; Wurtz et al., 2011; Fru-Cho et al., 2014). Cette capacité d'adaptation insoupçonnée de *P. vivax* permettrait à ce parasite de coloniser de nouvelles niches érythrocytaires, d'avoir accès à un réservoir parasite plus important que celui qui était anticipé et par conséquent fait peser le risque d'une transmission de *P. vivax* dans les populations Africaines et Malagasy jusque-là supposées être naturellement protégées car Duffy-négatives.

## II. Objectifs

A Madagascar, les équipes de l'IPM ont démontré la présence d'infections à *P. vivax* chez les individus Duffy-négatif suggérant la possibilité d'un autre mécanisme alternatif d'invasion des réticulocytes (Ménard et al., 2010). Cependant, le mécanisme utilisé par *P. vivax*, indépendamment de la protéine Duffy/DARC, n'est pas encore élucidé.

Dans ce contexte du paludisme à *P. vivax* dans le monde et plus particulièrement à Madagascar, l'objectif principal de ce projet est de décrypter les bases moléculaires, immunologiques et fonctionnelles des interactions adhésines parasitaires–récepteurs globulaires mis en jeu au cours des infections à *P. vivax* chez des individus n'exprimant pas son récepteur traditionnel, l'antigène Duffy.

### III. Méthodes

Des études transversales seront réalisées dans différentes zones endémiques à *P. vivax* à Madagascar afin :

- d'évaluer la prévalence actuelle des infections à *P. vivax* (TDR, PCR, sérologie-multiplex), de déterminer les foyers de transmission de *P. vivax* et de détecter les infections à *P. vivax* chez des individus n'exprimant pas l'antigène Duffy,
- de déterminer les couples adhésines parasitaires–récepteurs globulaires mis en jeu au cours des infections à *P. vivax* chez des individus Duffy-négatif.

### IV. Résultats et discussions

Des études transversales ont été réalisées dans plusieurs communes du District de Maevatanana afin d'évaluer la prévalence des infections à *P. vivax*. Les analyses moléculaires et sérologiques sont en cours.

### V. Impacts

A terme, ce programme de recherche permettra :

- De mieux connaître la prévalence des infections à *P. vivax* sur l'ensemble de l'île et le rôle du groupe sanguin Duffy dans cette infection dans les zones à risque,
- De déchiffrer les bases moléculaires, immunologiques et fonctionnelles de cette adaptation de *P. vivax* à une invasion de globules rouges/réticulocytes n'exprimant pas l'antigène Duffy afin de cibler les nouveaux couples adhésines/récepteurs identifiés dans de nouvelles stratégies thérapeutiques et/ou vaccinales.

### VI. Communications orales

- Vigan-Womas I. Address the new challenges for malaria control in Madagascar. Symposium Fiocruz-Institut Pasteur, 8-9 June 2015 – Oswaldo Cruz Foundation, Brazil. Conférencier Invité.

**Kpn****Role of intestinal carriage in the global emergence of multidrug resistant and hypervirulent clones of *Klebsiella pneumoniae*: a population biology approach**

Correspondant :

**Jean Marc COLLARD**Email : [jmcollard@pasteur.mg](mailto:jmcollard@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 590 19****Date de rédaction**

08/02/2016

**Lieux des travaux**

Antananarivo

Moramanga

**Andriniaina RAKOTONDRA SOA**Email : [aina@pasteur.mg](mailto:aina@pasteur.mg)**Budget total**

15 298,00 €

Co-investigateurs hors IPM

- **Sylvain BRISSE**, Investigateur principal, Evolutionary Microbial Genomics, Institut Pasteur, Paris, [sbrisse@pasteur.fr](mailto:sbrisse@pasteur.fr)

- Les **Instituts Pasteur de Dakar, Nouvelle-Calédonie et Cambodge**

Date début : **01/10/2015**Date fin : **01/10/2017**Durée (mois) : **24**

Financements :

**Institut Pasteur à Paris, ACIP 2014**

Mots clés : ***Klebsiella pneumoniae*, souches hypervirulentes, résistance aux antibiotiques**

## I. Contexte et justification

*Klebsiella pneumoniae* (Kp) est une bactérie à gram négatif appartenant à la famille des Entérobactériaceae qui a émergé au cours des dernières décennies comme un agent pathogène à deux titres. Premièrement, elle se classe parmi les bactéries pathogènes les plus difficiles à traiter en raison de l'accumulation d'éléments génétiques porteurs de résistances aux antimicrobiens (MDR). Des souches résistantes émergent dans toutes les régions du monde et peuvent facilement transiter à travers tous les continents, à l'instar de l'émergence mondiale des souches Kp abritant le gène de carbapénémase NDM-1.

Deuxièmement, des infections communautaires dues aux Kp ont été détectées d'abord en Asie et désormais dans le monde entier. Ces infections communautaires atteignent même les adolescents et jeunes adultes sains, et se présentent en plusieurs cas cliniques comme un abcès pyogène du foie, une pneumonie sévère, une septicémie ou une méningite.

Ces deux types (résistant [MDR] et hypervirulente [HV]) d'infections dues aux Kp sont causées par un nombre restreint de groupes clonaux (GC), qui sont considérés «à haut risque».

## II. Objectifs

L'objectif de cette étude est de quantifier le portage humain à haut risque en Kp chez les femmes enceintes et de déterminer la diversité phylogénétique de HV-Kp et MDR-Kp trouvés en portage à Madagascar dans les sites d'études choisis.

### III. Méthodes

#### III.1. Etude

Il s'agit de collecter 420 échantillons de selles ou d'écouvillonnages rectaux chez des femmes enceintes à partir du 3<sup>ème</sup> trimestre de grossesse. Les femmes enceintes seront sélectionnées après une enquête préliminaire et après consentement éclairé. Il aura un questionnaire socio-démographique et leurs antécédents médicaux seront demandés.

#### III.2. Culture et identification

Les écouvillons ou selles obtenus lors des inclusions seront inoculés pour pré-enrichissement dans du bouillon LB complété par de l'amoxicilline à 10mg/l. Après 24h d'incubation à 37°C, 100µl du bouillon pré-enrichi sera ensemencé sur gélose de Simmons citrate inositol (SCAI), un milieu spécifique pour la croissance des Kp. Après incubation pendant 48h à 37°C, les Kp se présentent sous forme de colonies jaunes qui seront directement identifiées par spectrométrie de masse (MALDI-TOF). Un antibiogramme et une recherche du phénotype mucoïde (string test) seront également faits.

#### III.3. Typage moléculaires des souches

Il est prévu de réaliser un sérotypage moléculaire des Kp-HV, de faire la recherche des gènes de virulence K1 et K2 mais aussi des gènes de résistance aux antibiotiques, et un typage MLST. Les souches confirmées Kp-HV seront envoyées à l'Institut Pasteur à Paris pour un séquençage complet du génome.

#### III.4. Gestion et analyse des données

Une analyse phylogénétique à haute résolution sera faite en comparant les souches Kp-HV isolées dans ce projet avec des souches de collection. Les données sur les facteurs de risque potentiels seront recueillies et analysées statistiquement. Les isolats confirmés comme appartenant aux groupes clonaux Kp-HV prédominants seront analysés pour mieux appréhender la phylogénie des isolats en portage en comparaison avec des souches connues ayant provoqués des cas cliniques. Pour cela on utilisera le « mapping » et la technique de SNP (single nucleotide polymorphism) afin de maximiser la résolution phylogénétique pour permettre de distinguer l'évolution de l'émergence de ces clones.

### IV. Résultats et discussions

Les inclusions ont débuté le 01/10/2015 et durant les 3 premiers mois d'inclusion de l'année 2015, 105 prélèvements de selles ont été reçus. Parmi les 63 prélèvements de Moramanga, 36 étaient positifs au Kp et parmi les 42 prélèvements provenant d'Antananarivo 29 étaient positifs. Deux souches de Kp isolées de ces inclusions présentaient un phénotype producteur de BLSE. Les 63 autres souches étaient sensibles aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération. Les inclusions se poursuivent et les premières souches vont être caractérisées par une approche moléculaire tel que décrit auparavant.

### V. Impacts

L'étude effectuée chez les femmes enceintes est particulièrement appropriée, puisque Kp est l'un des premiers colonisateurs de l'intestin humain après la naissance et l'un des agents pathogènes bactériens les plus fréquents dans les infections néonatales. Par conséquent, notre enquête pourra ouvrir de nouvelles perspectives sur le contrôle de ces infections à Madagascar.

**LAMPIK****Test de diagnostic rapide (LAMP) pour la détection des résistances aux antibiotiques**

Correspondant :

**Benoit GARIN**Email : [benoit.garin@pasteur.fr](mailto:benoit.garin@pasteur.fr)Email : [jmcollard@pasteur.mg](mailto:jmcollard@pasteur.mg)

Jean Marc COLLARD

Tél : **+261 20 22 590 19**

Co-investigateurs IPM

- **Odile RIVOARILALA**, bactériologie expérimentale, [odile@pasteur.mg](mailto:odile@pasteur.mg)

Pour la LAMP cysticerose :

- **Ines VIGAN-WOMAS**, unité immunologie des maladies infectieuses, [ines@pasteur.mg](mailto:ines@pasteur.mg)- **Anjanirina RAHANTAMALALA**, unité immunologie des maladies infectieuses, [anjanirina@pasteur.mg](mailto:anjanirina@pasteur.mg)

Co-investigateurs hors IPM

- **Mamy RANDRIA**, Laboratoire de biologie moléculaire, CHU Befelatanana- **J HOLIANJAVONY**, Hôpital de district, Antsirabe- **M RAZAFIMAHEFA**, Laboratoire de biologie clinique, Hôpital d'Androva, Mahajanga- **TB NUTMAN**, Clinical Parasitology Unit, JIAID, Bethesda, USADate début : **1/11/2012**      Date fin : **31/10/2015**      Durée (mois) : **36**

Financements :

**Grant Dedonder Clayton 2012**Mots clés : **POC, loop mediated isothermal amplification, résistance bactérienne aux antibiotiques****Date de rédaction**

05/02/2015

**Lieux des travaux**

Antananarivo

Mahajanga

**Budget total**

36 000 €

## I. Contexte et justification

### I.1. Contexte malagasy

Une étude dans des sites hospitaliers et de soins communautaires a montré la présence de plasmides porteurs de gènes de résistances aux  $\beta$ -lactamines chez les entérobactéries avec une prédominance de *bla*<sub>TEM1</sub>, de *bla*<sub>SHV12</sub> et de *bla*<sub>CTX-M15</sub> (Rakotonirina HC et al. BMC Microbiol. 2013 Apr 17;13:85.). Une étude sur les méningites infantiles à Antananarivo a été menée il y a 10 ans. Les laboratoires hospitaliers n'ont pas les moyens de réaliser des analyses bactériologiques et *a fortiori* des antibiogrammes. Les patients reçoivent des traitements antibiotiques en présomptif sans savoir s'ils sont adaptés à la sensibilité des bactéries par absence de prélèvements biologiques. Cette absence d'analyses de bactériologie est également un frein à l'obtention de données épidémiologiques précises sur les résistances aux antibiotiques à Madagascar.

Dans les pays en voie de développement (PVD), pour décentraliser les diagnostics et les rendre plus accessibles à la population avec un délai court de rendu de résultats, il est nécessaire de mettre à la disposition des laboratoires périphériques des tests de diagnostic de proximité, bon marché. Des techniques innovantes basées sur l'amplification isothermique de l'ADN ont été développées pour le diagnostic de virus, bactéries et parasites. Parmi elle, la LAMP ("Loop mediated isothermal Amplification") a démontré des propriétés compatibles avec nos objectifs de diagnostics de proximité : **a)** pas de nécessité de thermocycleur **b)** pas de nécessité d'extraction sophistiquée de l'ADN **c)** sensibilité et spécificité élevées **d)** cycle court d'amplification de 60 mn **e)** résultats lisibles directement à l'œil nu **f)** coût réduit.

La LAMP semble donc être un bon candidat pour être transférée dans les laboratoires des hôpitaux de district de manière à renforcer les réseaux de surveillance nationaux et les collaborations.

L'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) souhaite développer cette technique, en collaboration avec des partenaires industriels dans plusieurs directions, mais en priorité pour la détection des résistances bactériennes aux antibiotiques et d'un pathogène fréquent dans les infections urinaires (*Escherichia coli*).

## II. Objectifs

Mettre à la disposition des PVD des tests diagnostiques basés sur la biologie moléculaire (technique LAMP), simple d'utilisation, peu onéreux, dédiés à l'identification de bactéries pathogènes et de gènes de résistance aux antibiotiques.

## III. Méthodes

La LAMP a déjà été utilisée dans l'identification de certaines bactéries (*S. pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*) et de certains gènes de résistances (NDM-1, IMP-1, VIM-2) après culture conventionnelle de ces bactéries. Notre projet est ciblé sur la détection des bactéries responsables d'infections du système urinaire, telle que l'*Escherichia coli* (présente en forte proportion dans les infections urinaires), les *Klebsiella pneumoniae*, les *Proteus mirabilis*, l'*Enterobacter cloacae*, et l'*Enterococcus faecalis* avec détection des gènes *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub> et *bla*<sub>CTX-M</sub>.

Dans un premier temps cette technique sera validée sur des ADN extraits de colonies en culture de souches de référence en comparaison avec une méthode de référence qui est l'amplification PCR conventionnelle. La spécificité sera ensuite déterminée sur un panel de souches.

Dans un second temps, cette technique sera adaptée pour qu'elle soit utilisable directement sur des prélèvements (liquides stériles comme l'urine).

## IV. Résultats et discussions

Des amorces génériques pour les gènes *bla* des groupes *CTX-M1*, *CTX-M2*, *CTX-M8*, *CTX-M9* (selon la classification de R. Bonnet, 2004), *bla*<sub>TEM</sub> et *bla*<sub>SHV</sub> et pour cinq espèces bactériennes dont *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* (*K. pn*), *Proteus mirabilis* (*P. mir*), *Enterobacter cloacae* (*E. cloa*), *Enterococcus faecalis* (*E. fae*) ont été développées pour les amplifications par PCR conventionnelle (technique de référence) et pour la technologie LAMP. C'est le colorant Sybr Green I (SG I) qui a été utilisé pour une discrimination visuelle des produits LAMP. Les tests de sensibilité des techniques LAMP et PCR ont montré que l'amplification par la technologie LAMP sur les espèces *E. coli*, *K. pn*, *E. fae* et les gènes *bla* des groupes *CTX-M1*, *CTX-M2*, *CTX-M8*,

CTX-M9 est 100 à 1000 fois plus sensible (1 à 0,1pg/μL) que celle par l'amplification par PCR (0,1ng/μl). Quant à la LAMP sur le *P. mir* et *E. cloa*, elle est 10 fois plus sensible (0,1pg/μL) que celle de la PCR (1pg/μL).

La mesure de la spécificité par la technologie LAMP pour les amorces dessinées a été appliquée par rapport aux différentes souches du laboratoire préalablement typées. La spécificité de LAMP sur les espèces *E. coli*, *P. mir*, *E. cloa*, *E. fae*, a été testé sur 17 espèces bactériennes différentes (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marscesens*, *Citrobacter farmeri*, *Patoea agglomerans*, *Morganella morganii*, *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter freundii*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Haemophilus influenzae*) tandis que la spécificité de LAMP sur les groupes CTX-M1, CTX-M8, CTX-M9, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub> a été vérifié sur 42 gènes de résistances différents (comme *tem*, *oxa*, *pse*, *per*, *ges*, *vim*, *dha*, *cmv*, *fox*, *cit*, *ebc*, *veb*). Les résultats ont montré que les amorces LAMP ciblant les espèces *E. coli*, *K. pn*, *E. fae* et les groupes CTX-M1, CTX-M8, CTX-M9, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub> étaient spécifiques à 100%. Par contre, les amplifications avec les amorces LAMP ciblant le groupe CTX-M2 n'étaient spécifiques qu'à 90% (résultat encore à confirmer). Les résultats de spécificité de LAMP sur *P. mir* et *E. cloa* sont en cours.

La validation *in vivo* de la technique LAMP sur *E. coli* et sur les gènes CTX-M du groupe 1 a été effectuée sur 85 urines de patients présentant une suspicion d'infection urinaire. Les proportions d'urines positives pour *E. coli* et pour les gènes de résistance CTX-M du groupe 1 par la technique LAMP étaient respectivement de 17,65% (15/85) et de 15,29% (13/85). Ces proportions étaient de 5,88% (5/85) et de 1,18% (1/85) lorsque la technique d'amplification par PCR conventionnelle était utilisée et de 8,24% (7/85) et 2,35% (2/85) lors de l'ECBU qui est la technique de diagnostic référence de ce test de validation.

Ces résultats confirment la haute sensibilité de la technique d'amplification LAMP par rapport à l'amplification par PCR conventionnelle et l'ECBU pour la détection rapide d'*E. coli* et des gènes de résistance CTX-M du groupe 1 dans un prélèvement d'urine.

## V. Impacts

Si cette technique s'avère transférable dans les laboratoires de PVD, elle permettra non seulement une meilleure prise en charge des patients (rapide et adaptée), mais aussi l'insertion de ces laboratoires dans des réseaux de surveillance des résistances aux antibiotiques, nationaux et internationaux. Ce dernier aspect est fondamental pour que l'on puisse obtenir des données sur la surveillance des bactéries pathogènes et la situation de la résistance aux antibiotiques dans ce type de pays.

**Mada-Xpert**

**Optimisation du diagnostic des tuberculoses pulmonaires à microscopie négative et des tuberculoses extra pulmonaires à l'Hôpital Universitaire Joseph Raseta de Befelatanana d'Antananarivo, Madagascar**

Correspondant :  
**Voahangy RASOLOFO**

Email : [vrasolof@pasteur.mg](mailto:vrasolof@pasteur.mg)  
Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction  
20/01/2015

Co-investigateurs IPM

- **Voahangy RASOLOFO**, Unité des mycobactéries
- **Niaina RAKOTOSAMIMANANA**, Unité mycobactéries, [niaina@pasteur.mg](mailto:niaina@pasteur.mg)
- **Andrianantenaina RAKOTOSON**, Centre National de Référence des Mycobactéries, [ndrian@pasteur.mg](mailto:ndrian@pasteur.mg)

Lieux des travaux  
Antananarivo,  
Madagascar

Budget total  
€11 000 pour IPM

Co-investigateurs hors IPM

- **Dr Rivo RAKOTOARIVELO, Investigateur Principal**, Service des Maladies Infectieuses, Hôpital Universitaire Joseph Raseta Befelatanana (HUJRB)
- **Pr Mamy RANDRIA** (Responsable scientifique à Madagascar), Service des Maladies Infectieuses, HUJRB

Coordonnateurs et responsables scientifiques en Suisse et en France:

- **Dr Alexandra CALMY**, Unité VIH/Sida, Département de Médecine Interne des spécialités, Hôpital Cantonal Universitaire de Genève, 1205 Genève, Suisse
- **Pr Fabrice BONNET**, Service de Médecine interne et Maladies infectieuses, Hôpital Saint André au CHU de Bordeaux, France

Date début : **Avril 2013**      Date fin : **mars 2015**      Durée (mois) : **24**

Financements :

**Hôpital Cantonal Universitaire de Genève et CHU de Bordeaux**

Mots clés : **TB extrapulmonaire, TB pulmonaire à microscopie négative, diagnostic, GeneXpert**

## I. Contexte et justification

La tuberculose (TB) à Madagascar a une incidence de toutes les formes confondues estimée à 261/100 000 habitants ce qui constitue une des plus fortes incidences mondiales dans un contexte de faible exposition au VIH (environ 1% à l'échelle du pays). Les cas de TB pulmonaire à microscopie négative (TPM-) et de TB extra pulmonaires (TEP) représentent environ 34% des cas de tuberculose ; chez les patients dont la co-infection VIH et TB est reconnue, 60% ont une forme de tuberculose de type TPM- ou TEP.

Le diagnostic bactériologique de la TB par la culture est long, ne permettant pas une prise en charge optimale des patients. De nouveaux outils de diagnostic précoce, faciles à utiliser comme le test GeneXpert® et le test TB-Loopamp™, constituent une réelle opportunité pour l'amélioration de la prise en charge des TPM- et des TEP. Cependant, l'évaluation et la validation de ces outils diagnostiques s'avère nécessaire avant leur utilisation en routine à l'hôpital.

## II. Objectifs

Améliorer le diagnostic des TPM- et TEP à l'Hôpital Universitaire Joseph Raseta Befelatanana (HUJRB), Antananarivo, Madagascar.

- Evaluer la faisabilité de l'utilisation de GeneXpert à l'HUJRB, Antananarivo, Madagascar.
- Evaluer la performance des tests GeneXpert et TB-Loopamp™ pour le diagnostic des TPM-, les TEP par rapport à la culture sur milieu Löwenstein-Jensen comme méthode de référence et le diagnostic clinique de TB.

## III. Méthodes

L'étude a obtenu l'autorisation du comité d'éthique auprès du Ministère de la Santé.

### III.1. Recrutement des sujets

- 400 patients hospitalisés dans les services de maladies infectieuses, de pneumologie et de neurologie au sein de l'HUJRB, suspects de TPM- ou de TEP selon des critères prédéfinis.
- Durée de l'inclusion : 12 mois

### III.2. Examens biologiques

- Microscopie ; culture, tests GeneXpert et TB-Loopamp des liquides biologiques et crachats à l'IPM ;
- Examens biochimiques-cytobactériologiques classiques des liquides biologiques au Laboratoire de HUJRB ;
- Examen anatomopathologique des pièces biopsiques au Laboratoire d'Anatomo-pathologie de l'Hôpital Joseph Ravoahangy Andrianavalona.

## IV. Résultats

A la fin du recrutement, 488 prélèvements ont été analysés dont 229 pulmonaires et 259 extrapulmonaires. Les scores diagnostic indiquent une différence de sensibilité de la culture BK selon le site de prélèvement EPTB avec un meilleur rendement pour la culture avec les prélèvements ganglionnaires. La spécificité semble être élevée pour les tests GenXpert par référence à la culture, avec une forte sensibilité observée en particulier pour les prélèvements ganglionnaires et le pus. Les analyses et la rédaction des articles est en cours

## V. Conclusion

Etant donné les premiers résultats obtenus, la technique GeneXpert pourrait améliorer la prise en charge des TEP en milieu hospitalier

## VI. Impacts

- Renforcement des capacités de diagnostic des TPM- et des TEP.

**MALNUT****Etude sur la malnutrition et infections dans le district de Moramanga et de Morondava, Madagascar**

Correspondant :

**Rindra V RANDREMANANA**Email : [rrandrem@pasteur.mg](mailto:rrandrem@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72****Date de rédaction**

29/04/2016

Co-investigateurs IPM

- **Patrice PIOLA**, unité d'épidémiologie, [ppiola@pasteur.mg](mailto:ppiola@pasteur.mg)- **Ines VIGAN-WOMAS**, unité d'immunologie des maladies infectieuses, [ines@pasteur.mg](mailto:ines@pasteur.mg)**Lieux des travaux**Moramanga,  
Morondava,  
MadagascarDate début : **1/10/2013**Date fin : **30/09/2015**Durée (mois) : **24****Budget total**

127 526,4 €

Financements :

**USAID- 3442/IPM/DAF/Hn/2013 du 31/10/2013**Mots clés : **Malnutrition chronique, déterminants, infections, Madagascar**

## I. Contexte et justification

Dans les pays en développement, 10 à 20% des enfants de moins de cinq ans sont concernés par la malnutrition aiguë et un enfant sur trois a un problème de retard de croissance. Si la malnutrition aiguë se manifeste surtout par une maigreur et est connue par un risque élevé de décès, la malnutrition chronique se manifeste par une petite taille et passe souvent inaperçue. A Madagascar, la malnutrition chronique constitue le principal problème de malnutrition; depuis près de 25 ans, la proportion d'enfants de moins de 5 ans présentant un retard de croissance persiste à presque 50%. De plus, les maladies infectieuses constituent encore les principales causes de mortalité chez les enfants de moins de 5 ans. En effet, la 1<sup>ère</sup> et la 4<sup>ème</sup> cause de mortalité sont les infections respiratoires aiguës (18,0%) et les maladies diarrhéiques (9,0%). La présente étude a pour but de proposer des recommandations de prévention pour la malnutrition chronique compliquée d'infections parasitaires. Les infections intestinales d'origine parasitaire constituent une des infections opportunistes des enfants malnutris chroniques.

## II. Objectifs

- Identifier les déterminants de la malnutrition chronique compliquée d'infections intestinales parasitaires
- Identifier les déterminants de la malnutrition chronique et des pratiques alimentaires

## III. Méthodes

L'étude a été menée au niveau du site de surveillance démographique et de l'état de santé (SSDS) de la population de Moramanga et dans 13 Fokontany de la Commune de Bemanonga, district de Morondava.

Un dépistage des enfants de moins de 5 ans souffrant de malnutrition a été mené dans un premier temps par des mesures anthropométriques. Ces mesures incluaient la prise du poids, de la taille et du périmètre brachial. Toutes les mesures ont été faites en double et la moyenne des 2 valeurs a été

considérée comme valeur finale. La définition du statut nutritionnel des enfants a été basée sur l'indice taille/ âge pour la malnutrition chronique. Cet indice a été exprimé en écart-type (ET) ou z-scores en fonction de la médiane des valeurs de références internationales, et le score a été ensuite catégorisé selon la définition de la malnutrition chronique. Les enfants malnutris et normonutris de 6 à 59 mois ont été ensuite sélectionnés aléatoirement parmi ceux ayant participé au dépistage pour être inclus dans une étude cas-témoins. Les cas ont été les enfants malnutris chroniques et les témoins étaient des enfants normonutris. Un questionnaire a été administré auprès des mères afin de collecter des données sur les déterminants potentiels de la malnutrition chronique. Un échantillon de selles a été collecté en vue de recherches de parasites intestinaux.

#### IV. Résultats

Parmi les 9330 enfants ayant fait l'objet de mesures anthropométriques et ayant eu de mesures valides dans les 2 districts, 1826 enfants âgés de 6 à 59 mois ont été inclus dans l'étude cas-témoin: 894 enfants à Moramanga (431 malnutris chroniques et 463 sans problème de malnutrition) et 932 (420 enfants malnutris chronique et 512 enfants sans problème de malnutrition) à Morondava.

Dans le site de Morondava, la proportion des enfants ayant eu des pratiques alimentaires inadéquates (indice obtenu à partir de l'allaitement maternel, la diversité et fréquence alimentaire) a été plus élevée par rapport à celle de Moramanga et concernait la moitié des enfants de 6 à 35 mois. La place de l'éducation des femmes pour améliorer la qualité de l'alimentation des enfants ayant été confirmée dans cette étude, les programmes de sensibilisation et d'éducation nutritionnelle devraient être améliorés pour qu'ils soient adaptés aux femmes avec un bas niveau d'éducation.

La prévalence de la malnutrition chronique a été supérieure à la moyenne nationale à Moramanga de l'ordre de 52,8% (IC 95%: 51,7-54,0), elle a été de 40,0% (IC 95%: 37,8-42,1) à Morondava. Les déterminants identifiés concernaient à la fois des facteurs immédiats comme l'infection parasitaire et les ingérés en protéines, des facteurs sous-jacents liés à l'enfant comme son poids à la naissance et l'intervalle de naissance avec son aîné, les facteurs liés à son ménage comme le niveau socio-économique et à sa mère incluant son statut d'activité. Les déterminants de la malnutrition chronique identifiés impliquent le renforcement des interventions déjà existant dans les secteurs suivants : hygiène et assainissement, déparasitage des enfants, programmes sur la santé maternelle visant à réduire les facteurs de risque prénatals pouvant influencer l'issue de grossesse, planning familial en vue de mieux espacer les naissances. Ces programmes devraient cibler les ménages défavorisés et devrait s'accompagner d'un volet éducation et sensibilisation des femmes (bonne utilisation des récoltes et nourriture, adhésion au service proposé par le système de santé, apport alimentaire suffisant en protéines).

La prévalence du portage de parasites intestinaux chez les enfants malnutris chroniques dans les 2 sites d'études a été de 24,6% (IC 95% : 21,7-27,5) ; elle a été plus importante à Moramanga de l'ordre de 30,4 % (IC 95% : 26,1-34,7), et de 18,6% (IC 95% : 14,9-22,3) à Morondava. Nos résultats ont montré que la survenue d'une infection intestinale d'origine parasitaire chez un enfant malnutri chronique était liée aux pratiques/comportements de soins et d'alimentation, à l'exposition au système de soins lesquelles semblent être déterminées par le niveau socio-économique des ménages. Ainsi, chez les enfants malnutris chroniques, la sensibilisation devrait être renforcée pour la consommation d'aliments riches en fer, une meilleure adhésion des parents aux programmes fournis par le système de santé comme la

supplémentation en vitamine A, le déparasitage des enfants et l'accouchement au niveau des structures de santé. L'accessibilité physique et financière de la population à ces programmes devrait être améliorée.

## V. Impacts

Cette étude a permis d'identifier des facteurs pouvant influencer la survenue de la malnutrition chronique, l'association entre infection intestinale d'origine parasitaire et la malnutrition chronique et également les pratiques alimentaires des enfants dans les 2 districts. La connaissance de ces facteurs pourra aider les décideurs dans le renforcement des interventions pour améliorer le statut nutritionnel et les pratiques alimentaires des enfants malagasy. De plus, ces résultats pourraient être utilisés pour la mise à jour du Plan National d'Action pour la Nutrition phase III à Madagascar.

## VI. Productions scientifiques

### VI.1. Rapport

- Remonja RC, Rakotonirainy NH, Rakotomalala H, Mangahasimbola RT, I Vigan-Womas, PPiola Rendremanana R. Malnutrition et infections dans le district de Moramanga et Morondava. Décembre 2015.

### VI.2. Publication

- Remonja RC, Rakotonirainy NH, Rakotomalala H, Mangahasimbola RT, I Vigan-Womas, PPiola Rendremanana R. Malnutrition et infections dans le district de Moramanga et Morondava. 23 Mars 2015, IPM, Antananarivo

**MALPRED**

**Mathematical models on surveillance data to detect epidemic thresholds et GIS technology to visualize trends in malaria incidence**

Correspondant :

**Florian Girond**Email : [fgirond@pasteur.mg](mailto:fgirond@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction

21/01/2015

Co-investigateurs IPM

- **Patrice PIOLA**, unité épidémiologie, [ppiola@pasteur.mg](mailto:ppiola@pasteur.mg)
- **Fanjasoa RAKOTOMANANA**, unité épidémiologie, [fanja@pasteur.mg](mailto:fanja@pasteur.mg)
- **Laurence RANDRIANASOLO**, unité épidémiologie, [laurence@pasteur.mg](mailto:laurence@pasteur.mg)
- **Bienvenue RAHOILJAONA**, unité épidémiologie, [rbienvenue@pasteur.mg](mailto:rbienvenue@pasteur.mg)
- **Reziky MANGAHASIMBOLA**, unité épidémiologie, [mreziky@pasteur.mg](mailto:mreziky@pasteur.mg)

Co-investigateurs hors IPM :

- **Télesphore BROU**, IRD
- **Vincent HERBRETEAU**, IRD

Date début : **18/09/2012**Date fin : **18/10/2015**Durée (mois) : **36**

Financements :

**CDC - USAID**Mots clés : **Paludisme, Epidémie, Prédiction, Cartographie, Web**

Lieux des travaux



Budget total

12 400 €

## I. Contexte et justification

A Madagascar, l'incidence du paludisme a diminué au cours des dernières décennies, notamment grâce au succès des interventions de lutte contre le paludisme. Cependant, une recrudescence des épidémies de paludisme au cours des dernières années a souligné la nécessité d'un système d'alerte précoce contre le paludisme (Malaria Early Warning System, MEWS) adapté aux ressources du pays. Une surveillance sentinelle avec des données de haute qualité et un système de notifications en temps réel est une alternative aux données recueillies par le système national d'information sanitaire de routine. Le développement et la mise en œuvre d'un système d'alerte précoce s'appuyant sur les nouvelles technologies d'information et de communication est une étape importante vers la détection précoce des épidémies de paludisme.

L'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) et le ministère malgache de la Santé (MinSan) ont mis en œuvre un système de surveillance sentinelle basé sur les centres de santé de base (CSB). Le système permet le suivi de plusieurs maladies à potentiel épidémique: le paludisme, les maladies de type grippal, les infections à arbovirus suspects et syndromes diarrhéiques. Ce système implanté depuis 2007 avec 13 centres s'est progressivement étendu à 34 sites en 2011 et jusqu'à 54 sites en 2015, avec la mise en place d'une surveillance spécifique du paludisme autochtone dans les Hautes-Terres Centrales de Madagascar. Selon les politiques nationales, chaque patient fébrile est testé pour l'infection du paludisme avec un test de diagnostic rapide (TDR).

L'anticipation du risque épidémique devient un enjeu qui se doit d'être conforté par un outil capable de fournir aux décideurs des informations accessibles, fiables et dynamiques pour une aide à la décision opérationnelle et stratégique.

## II. Objectifs

Ce projet vise à développer un système de détection précoce et de prédiction des épidémies de paludisme à Madagascar à partir des données issues du réseau de surveillance sentinelle.

## III. Méthodes

Toutes les données cliniques des sites sentinelles sont agrégées et rapportées quotidiennement par SMS en s'appuyant sur des mécanismes de transmission de données s'appuyant sur des technologies mHealth. Ces données sont automatiquement enregistrées dans une base de données PostgreSQL hébergée sur un serveur dédié à l'IPM. L'utilisation de modèles statistiques doit permettre de modéliser des séries temporelles et de définir une valeur attendue, au-dessus de laquelle pourrait être définie une alerte.

La mise en place d'un tel système fait face à plusieurs défis scientifiques et techniques :

- Manque de consensus sur la définition d'une épidémie de paludisme
- Multiplication des méthodes statistiques de détection
- Absence d'épidémie de référence pour l'évaluation des méthodes statistiques de détection des épidémies (spécificité et sensibilité)
- Prérequis suggérés par l'OMS non disponibles pour l'utilisation d'algorithmes (5 ans de données rétrospectives et identification/exclusion des années épidémiques).
- Prise en compte du biais spatial, populationnel et peut-être temporel imposé par les données des sites sentinelles, qui ne représentent qu'une fraction des cas survenus en population.
- Prise en compte des sites à faible nombre de cas.
- Prise en compte, dans les modèles prédictifs de variables environnementales et des stratégies de lutte contre le paludisme (pulvérisation d'insecticide - CAID et moustiquaires - MIILD).

## IV. Résultats et discussions

Une plate-forme technologique a été conçue pour aider les acteurs de santé publique à interpréter les signaux de données de surveillance. Un système de surveillance opérationnel accessible via un navigateur web a été développé. Cet outil permet d'appliquer différents algorithmes de détection de seuil épidémique en temps réel sur les séries chronologiques de données sentinelles. Cet outil à la fois simple et intuitif permet aux utilisateurs de tester, comparer, et de modifier les paramètres des différents algorithmes proposés. Les résultats sont présentés instantanément de façon graphique mais aussi cartographique.

Les méthodes statistiques dans un système automatisé ne peuvent être utilisées afin de confirmer une épidémie et ainsi la nécessité ou non d'une intervention. Ces données doivent être utilisées afin d'extraire les changements noyés dans les tableaux de routine des données hebdomadaires du réseau de surveillance sentinelle. L'épidémiologiste pourra alors se concentrer sur des points de données de surveillance spécifiques. Cette plate-forme web interactive permet alors aux acteurs de la lutte de superposer différentes variables telles que les températures, les précipitations et l'indice de végétation normalisé (NDVI), mais également les interventions de lutte contre le paludisme (MIILD, CAID) afin de générer des hypothèses dans une approche écologique.

Un système de détection implique des méthodes statistiques adaptées au contexte de surveillance afin de répondre le mieux possible aux objectifs opérationnels. Les méthodes de détection recommandées, à savoir, celles de l'OMS et du Centers for Disease Control and Prevention (CDC) exigent des prérequis non disponibles par les données du réseau de surveillance sentinelle. Pour cette raison, le système a migré vers l'utilisation d'une méthode alternative et moins restrictive dans laquelle une alerte est définie comme un dépassement du 90<sup>ème</sup> percentile calculé sur l'ensemble de la série chronologique d'un site pendant trois semaines consécutives. Cette méthode offre l'avantage d'être facilement interprétable.

Ce système surveillance sentinelle couplée à cette plate-forme technologique a permis la détection d'une épidémie de paludisme dans la partie sud du pays au début du mois d'Octobre 2014 qui fut par la suite confirmée par une enquête épidémiologique.

## V. Impacts

Ce système opérationnel apporte aux acteurs de la lutte contre le paludisme, des outils et des méthodes leur permettant de détecter des tendances et d'anticiper le risque de survenue d'une épidémie de paludisme afin de mettre en place une réponse appropriée.

## VI. Productions scientifiques

### VI.1. Publications

Article soumis.

### VI.2. Communications orales

- African Malaria Research Conference à Pretoria du 29 au 30 Juin 2015, University of Pretoria Centre for Sustainable Malaria Control. Titre de la présentation : « Development of a web based Malaria Early Warning System using mobile health ».

Mhealth	Mobile Health	
Correspondant : <b>Florian Girond</b>	Email : <a href="mailto:fgirond@pasteur.mg">fgirond@pasteur.mg</a> Tél : <b>+261 34 98 329 26</b>	<b>Date de rédaction</b> 28/04/2016
Co-investigateurs IPM		<b>Lieux des travaux</b>
- <b>Patrice PIOLA</b> , unité d'épidémiologie, <a href="mailto:ppiola@pasteur.mg">ppiola@pasteur.mg</a>		
- <b>Laurence RANDRIANASOLO</b> , unité épidémiologie, <a href="mailto:laurence@pasteur.mg">laurence@pasteur.mg</a>		
- <b>Stephan RANDRIANASOLO</b> , unité épidémiologie, <a href="mailto:stephan@pasteur.mg">stephan@pasteur.mg</a>		
- <b>Reziky MANGAHASIMBOLA</b> , unité épidémiologie, <a href="mailto:mreziky@pasteur.mg">mreziky@pasteur.mg</a>		
Date début : <b>5/05/15</b>	Date fin : <b>5/05/2016</b>	<b>Budget total</b> 12 400 €
Durée (mois) : <b>12</b>		
Financements : <b>CDC - USAID</b>		
Mots clés : <b>Surveillance, mHealth</b>		

## I. Contexte et justification

L'expression "Mobile Health" (mHealth ou m-health) s'emploie pour décrire les pratiques de la médecine utilisant les technologies de communication mobile : téléphones mobiles, tablettes numériques et PDA (personal digital assistant), etc. Dans le cadre de la surveillance, l'utilisation de technologies mobiles (GSM) permet une remontée en temps réel des données cliniques du réseau de surveillance. Ces données sont quotidiennement rapportées par « short message service » (SMS) et automatiquement stockées sur une base de données PostgreSQL hébergée sur un serveur dédié à l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM). Alors que les technologies de communication mobile existent depuis une vingtaine d'années, c'est l'apparition des Smartphones qui, depuis une décennie, a contribué à asseoir ce nouveau concept dans le domaine plus vaste de la « e-health » ou e-santé.

## II. Objectif

L'objectif de ce projet vise à améliorer l'ensemble de la chaîne de transmission/traitement (envoi, réception, rétro-information) de données en temps réel par l'utilisation de nouvelles technologies de l'information et de communication, notamment par l'utilisation de Smartphones Android.

## III. Méthodes

Le fonctionnement de Smartphone sous système Android, permet le développement d'applications dédiées. Elles sont entièrement réalisées en interne par un technicien développeur sous Android. L'envoi/réception de données doit s'effectuer au travers de protocole GSM et non Data afin de pallier au manque de couverture internet sur l'ensemble du Territoire.

#### IV. Résultats et discussions

Depuis novembre 2014, l'ensemble des sites sentinelles (54) et des agents communautaires (119) sont équipés de Smartphones Android. Des masques de saisie (en langue malagasy) ont été développés afin de permettre une diminution des erreurs de saisie (par rapport à l'envoi classique d'une chaîne de caractères entrée manuellement) et de faciliter l'ajout/modification/suppression de variables. Ces données sont automatiquement retranscrites sous format SMS et envoyées/enregistrées sur une base de données PostgreSQL sur le serveur de l'IPM. Des algorithmes de détection de seuils épidémiques et la création d'indicateurs ont été développés à partir du logiciel de statistique R connecté en temps réel à la base de données sentinelle PostgreSQL. Le résultat des traitements sont renvoyés par SMS à chaque Smartphone. Une application dédiée a été développée pour recevoir les SMS et générer automatiquement à partir de ces données une rétro-information hebdomadaire sous forme de textes, graphiques et cartographies. Les agents de santé peuvent ainsi accéder aux indicateurs de l'ensemble du réseau de surveillance. L'utilisation de SMS permet de pallier au manque de couverture internet sur le Territoire. Les Smartphones dotés de cartes mémoires permettent également de stocker une série de vidéos didacticiels en malagasy sur des thématiques spécifiques de santé publique.

**MOPPRAM****Modélisation des zones vulnérables à la propagation du paludisme en rapport avec la mobilité de la population à Madagascar**

Correspondant :

**Felana Angella IHANTAMALALA**Email : [ifelana@pasteur.mg](mailto:ifelana@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction

22/04/2016

Co-investigateurs IPM

- **Jean Marius RAKOTONDRAMANGA**, Modélisateur, unité épidémiologie, [rjmarius@pasteur.mg](mailto:rjmarius@pasteur.mg)

- **Fanjasoa RAKOTOMANANA**, Responsable du CELSIGS, unité d'épidémiologie, [fanja@pasteur.mg](mailto:fanja@pasteur.mg)

Co-investigateurs hors IPM

- **Amy WESOLOWSKI**, Postdoctoral Fellow, Department of Epidemiology, Center for Communicable Disease Dynamics Harvard School of Public Health, [awesolow@hsph.harvard.edu](mailto:awesolow@hsph.harvard.edu)

- **Vincent HERBRETEAU**, Géographe de la santé, UMR ESPACE-DEV, Université de La Réunion, [vincent.herbreteau@ird.fr](mailto:vincent.herbreteau@ird.fr)

- **Gwenaëlle PENNOBER**, UMR ESPACE-DEV, Université de La Réunion, [gwenaelle.pennober@univ-reunion.fr](mailto:gwenaelle.pennober@univ-reunion.fr)

Date début : **5/12/2013**Date fin : **31/09/2017**Durée (mois) : **45**

Financements :

Mots clés : **modélisation, SIG, mobilité, paludisme****I. Contexte et justification**

Le paludisme reste un problème majeur de santé publique à Madagascar. Les données de formations sanitaires révèlent que la part de morbidité de paludisme est passée de 22% en 2003 à 5% en 2011 pour les enfants de moins de 5 ans, et de 17,6% à 2,3% en 2011 pour les supérieurs à 5 ans. Il représente la 8<sup>ème</sup> cause de morbidité en 2011 au niveau CSB par rapport à 2010 où il représentait la 6<sup>ème</sup> cause. Le taux de la mortalité est passé de 26% à 19% pour les enfants de moins de 5 ans. Le plan stratégique national de 2013 à 2017 vise à renforcer ces acquis en vue d'une élimination. L'avancée stratégique de la lutte aura comme conséquence la coexistence des zones en phase de pré-élimination, de consolidation ou même de contrôle, nécessitant une gestion de proximité de la lutte. Les anophèles ayant des distances de vol habituellement courtes (de l'ordre de quelques centaines de mètres), ils contribuent donc peu à la diffusion des infections plasmodiales sur le plan géographique. Le rôle de la mobilité de la population mérite d'être abordé. La mobilité de la population peut favoriser non seulement l'introduction ou réintroduction d'une maladie, mais également la résurgence de la maladie, au-delà des transmissions locales pouvant être assurés par les déplacements des moustiques. L'utilisation du GSM pour la géolocalisation du mouvement de la population en santé publique est un moyen innovant pour déterminer le flux migratoire de la population. Une étude effectuée dans le cadre de l'enquête sur les indicateurs de paludisme (2013) a montré que

69% des ménages en milieu urbain possède des téléphones portables, environ 21% en milieu rural et 25% dans l'ensemble du pays. En appui à cette nouvelle approche, des enquêtes en population axée spécialement sur la mobilité seront effectuées.

## II. Objectifs

L'objectif principal consiste à modéliser la circulation de l'infection plasmodiale à travers le pays en tenant compte de la mobilité de la population.

## III. Méthodes

L'étude va être divisée en trois parties :

Analyse spatio-temporelle de la distribution du paludisme entre 2010 et 2014 :

- analyse descriptive de la tendance générale, de la saisonnalité et de la tendance par âge du paludisme simple auprès des CSB et du paludisme grave auprès des hôpitaux
- analyse spatiale par la méthode de Martin Kulldorff pour déterminer les zones à forte endémicité.

Etude de la diffusion du paludisme en rapport avec la mobilité de la population :

- étude de la connectivité entre les districts
- mesure de la mobilité en utilisant des données de téléphone mobile entre janvier et juin 2015
- étude de l'effet de la mobilité dans la diffusion du paludisme.

Validation :

- Comparaison de la diffusion du paludisme avec les données de mobilité quantifiée avec les cartes SIM et des données des enquêtes sur terrain auprès de la population de Moramanga

## IV. Résultats et discussions

### Analyse spatio-temporelle de la distribution du paludisme entre 2010 et 2014

Pour le paludisme simple 1.807.752 cas ont été rapportés des CSB durant les cinq années d'étude avec une augmentation significative de l'incidence nationale entre 2010 et 2014 ( $p$ -value  $< 0,001$ ). Pour la saisonnalité, le nombre de cas augmente à partir du mois de septembre jusqu'en avril avec un pic entre janvier et avril. Les tranches d'âge les plus touchées sont les enfants de moins de 5 ans (36%) et les enfants entre 5 et 14 ans (30%). D'après l'analyse spatiale des clusters, les plus fortes concentrations des cas se situent dans le Nord Ouest et les districts de la côte Est de Madagascar.

Pour le paludisme grave, l'analyse a été effectuée sur 43.306 cas rapportés avec une incidence de 37/100.000 pour 2010 et de 41/100.000 en 2014 ( $p$ -value  $< 0,001$ ). La saisonnalité est similaire à celle du paludisme simple. Le cluster est spatialement significatif dans le Nord et sur quelques districts de la côte Est.

Cette étude a permis de mieux connaître la distribution géographique du paludisme à l'échelle du pays, d'identifier des zones à forte endémicité, source potentielle d'exportation du paludisme et de reconsidérer les groupes d'âge vulnérable au regard du programme de lutte. La qualité des données

épidémiologiques est à discuter concernant l'approvisionnement et l'accès aux services de santé. Les districts présentant des incidences significativement élevés doivent être étroitement surveillés afin de réduire la transmission et d'éviter d'éventuel risque d'émergence dans les zones à faible endémicité.

En perspective, les données de téléphone mobile sont en cours de traitement mais les combiner avec le modèle épidémiologique du paludisme permettront d'estimer l'impact de la mobilité humaine saisonnière sur les maladies infectieuses telles que le paludisme, de comprendre la faisabilité d'un outil de prévision intégrée et d'identifier les lieux et voyages à haut risque qui devraient être ciblés par les programmes de lutte.

## V. Productions scientifiques

### Communications orales ou affichées

- Orale et affichée : Journée des doctorants du Collège Doctoral RAMI le 27 avril au 2 mai 2015 à Tuléar « Modélisation des zones vulnérables à la propagation du paludisme en rapport avec la mobilité de la population »

**PALEVALUT**

Evaluation opérationnelle de la lutte intégrée contre le paludisme.  
Madagascar, Bénin, Côte d'Ivoire, Cameroun, Niger

Correspondant :  
**Christophe ROGIER**

Email : [crogier@pasteur.mg](mailto:crogier@pasteur.mg)  
Tél : +261 20 22 412 72

Date de rédaction  
28/04/2016

Co-investigateurs IPM

- **Milijaona RANDRIANARIVELOJOSIA**, unité paludisme, [milijaon@pasteur.mg](mailto:milijaon@pasteur.mg)
- **Thomas KESTEMAN**, unite paludisme, [thomask@pasteur.mg](mailto:thomask@pasteur.mg)

Lieux des travaux  
Madagascar, Bénin,  
Côte d'Ivoire,  
Cameroun et Niger

Date début : **Mai 2013**

Date fin : **Mai 2016**

Durée (mois) : **19**

Budget total

1,5 M €

Financements :

**FEI – 5% FondsMondial**

Mots clés : **Paludisme, lutte, efficacité. Déterminants, procédures**

## I. Contexte et justification

Le Fonds Mondial et les programmes bilatéraux comme la President Malaria Initiative (USA) ont massivement financé la lutte contre le paludisme. Il est de plus en plus demandé aux états de contribuer par eux-même à cet effort de lutte. Dans un contexte de rationalisation de l'utilisation des moyens dédiés à la lutte contre le paludisme, il devient primordial de pouvoir évaluer l'impact, l'efficacité en condition réelle (*effectiveness*) et le ratio coût/efficacité des mesures de lutte adoptées, ainsi que d'identifier les facteurs qui conditionnent cette efficacité, qu'ils soient économiques, sociaux, organisationnels, comportementaux, biologiques, entomologiques ou autres.

## II. Objectifs

Concernant les stratégies de lutte contre le paludisme financées par le Fonds Mondial, FM (lutte anti-vectorielle, diagnostic et traitement des cas cliniques de paludisme par des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA), traitement préventif intermittent (TPI) et éducation pour la santé (IEC)), l'objectif général est de mettre au point, valider et publier, pour les pays d'Afrique subsaharienne et de l'Océan Indien une méthodologie pluridisciplinaire intégrée :

- d'évaluation post-déploiement de l'efficacité en conditions réelles (*effectiveness*) et de l'efficacité des stratégies utilisables dans tous les contextes, et
- d'identification des facteurs interférant avec le déploiement et l'efficacité de ces stratégies, qu'ils soient de natures psychologique, sociale, culturelle, organisationnelle ou économique.

Le but est de mesurer l'impact des interventions du FM, d'identifier et mesurer les facteurs interférant avec l'efficacité de ces interventions, de capitaliser les résultats obtenus, et de disséminer et/ou transposer ces résultats. Il s'agit de définir une « boîte à outils » d'évaluation de la lutte intégrée contre le paludisme, à géométrie variable et déployée selon les besoins de l'évaluation et des pays concernés. Les éléments de cette « boîte à outils » pourront être utilisés ensemble ou séparément, à l'échelle d'un pays, d'une région

ou d'un district. Ils seront présentés dans un guide rassemblant les procédures et modes opératoires les plus adaptés qui auront été mis au point par des experts et validés dans des pays différents par leurs contextes épidémiologiques, entomologiques, sanitaires, économiques et socio-culturels.

Le présent projet et l'utilisation de ce guide permettront d'améliorer l'efficacité et la qualité des interventions et des services par un renforcement des stratégies nationales et de leur adaptation aux besoins et aux contextes socio-culturels.

### III. Activités

#### • Sélection des méthodes et élaboration des éléments de la « boîte à outils » (WP1)

Parmi les méthodes connues, sélection des méthodes pertinentes par rapport aux objectifs, les moins coûteuses, les plus reproductibles, et pouvant être standardisées (i.e. utilisables par d'autres experts que leurs concepteurs) en tirant parti de l'expérience des experts appartenant au consortium et de la littérature : ateliers méthodologiques.

#### • Mise au point, évaluation et comparaison des méthodes (WP2)

Afin de pouvoir faire reposer le choix des méthodes identifiées par le WP1 sur des évidences, les méthodes sélectionnées seront mises au point (élaboration de protocoles et procédures standardisées) et mises en œuvre simultanément puis comparées, dans deux pays (Bénin et Madagascar), sur des terrains connus et où les équipes du consortium sont les plus expérimentées dans ce domaine.

1. Mise au point et évaluation des méthodes reproductibles et standardisées d'évaluation post-déploiement de l'efficacité en conditions réelles (*effectiveness*) et de l'efficacité des mesures de lutte antipaludique.
2. Mise au point et évaluation des méthodes reproductibles et standardisées d'identification et de mesure de l'importance des facteurs culturels, sociaux, logistiques, économiques et biologiques (e.g. résistances) interférant avec l'accès, l'utilisation ou l'efficacité des mesures de lutte antipaludique.

#### • Transfert et validation des méthodes sélectionnées et mises au point au WP2 (WP3)

Tirant parti des enseignements du WP2, un premier guide décrivant les méthodes retenues dans la « boîte à outils » sera rédigé et appliqué dans des pays différents par de nouvelles équipes « pays » (Côte d'Ivoire, Niger, Cameroun), avec l'aide ou les conseils d'experts des deux premières équipes (du Bénin et de Madagascar).

#### • Finalisation et diffusion de la « boîte à outils » (WP4)

Sous la forme d'un guide méthodologique comprenant les procédures, les protocoles et les modes opératoires relatifs aux méthodes sélectionnées, évaluées et validées.

#### • Coordination et transferts d'expérience (WP5).

Un comité de pilotage réunira par téléconférence les responsables de la conduite des travaux de chaque pays ainsi que les représentants des PNLP une fois par semestre au moins. Le suivi et monitoring des activités reposera sur un système d'information ad hoc avec compte rendu mensuel.

## IV. Premiers résultats

Concernant Madagascar, des résultats surprenants ont été obtenus à l'issue de l'étude des facteurs sociocomportementaux interagissant avec les interventions de lutte antipaludique, entravant ou facilitant leur efficacité.

Des enquêtes qualitatives par entretiens semi-directifs et observations ont été menées dans quatre sites situés dans des contextes épidémiologiques variés : Moramanga, Antsohihy, Fianarantsoa, Mananjary. 70 entretiens ont été réalisés, dont 18 avec des prestataires de soins. Les entretiens exploraient trois thématiques : les perceptions et pratiques usuelles en cas de fièvre (chez l'adulte et l'enfant) ; les pratiques de prévention du paludisme ; la connaissance et l'accès au traitement.

### IV.1. Des perceptions floues du paludisme

Dans les quatre sites d'étude, les perceptions populaires confondent le « paludisme » (*tazomoka*) et les fièvres (*tazo*). Le lien entre le vecteur et la maladie n'est pas clair. Dans les perceptions, *tazomoka* n'est pas uniquement dû aux piqûres de moustiques, mais aussi au manque d'hygiène, à la fatigue (Moramanga), au fait de manger certains fruits (Fianarantsoa). Quel que soit le faciès épidémiologique de la zone étudiée, le paludisme n'est pas perçu par la population comme un problème de santé grave ou préoccupant. Les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans sont perçus comme étant particulièrement vulnérables.

### IV.2. Faible recours aux formations sanitaires et retard aux soins :

Les principaux problèmes dans la prise en charge du paludisme restent le faible recours aux formations sanitaires et le retard aux soins. Ce retard relève de plusieurs causes : les difficultés financières, l'éloignement des structures de santé, le manque d'information, les recours usuels en cas de maladie (automédication, puis recours au guérisseur traditionnel et/ou à l'Agent communautaire, puis recours ultime aux structures de santé s'il n'y a pas d'amélioration).

### IV.3. Méconnaissances des femmes et indisponibilité des médicaments pour le Traitement Préventif du Paludisme (TPI) chez les femmes enceintes :

Dans les quatre zones étudiées, rares sont les femmes qui affirment avoir pris le traitement préventif contre le paludisme pendant leur grossesse. Soit elles ont pris des médicaments sans qu'on leur explique de quoi il s'agissait et sans qu'elles s'en souviennent, soit le TPI n'a pas été donné (des soignants ont évoqué des ruptures de stocks). De manière générale, on observe un faible niveau de connaissances des patients sur leur maladie et les médicaments, en raison des difficultés de communication entre soignants et soignés.

### IV.4. Utilisation variable de Moustiquaire Imprégnée d'Insecticide (MID), rarement en lien avec la protection contre le paludisme

L'utilisation des moustiquaires est justifiée en premier lieu par la gêne occasionnée par les moustiques. La protection contre le paludisme est citée comme deuxième raison d'utilisation de la MID à Mananjary seulement. De nombreux facteurs favorisent ou limitent l'utilisation des MID : la température, le vent, la luminosité, la préservation de l'intimité du couple, l'impossibilité pour les enfants de sexes différents de dormir sur la même couche à partir d'un certain âge (variable selon les zones). Lorsque le nombre de MID est insuffisant dans un ménage, ce sont les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes qui dorment en priorité sous la moustiquaire. Le message de sensibilisation selon lequel « il faut dormir sous moustiquaire » est bien retenu par la population, mais la raison de cette nécessité (se protéger contre le paludisme) n'est pas toujours intégrée. Les consignes d'utilisation et de lavage ne sont pas retenues ni appliquées dans leur intégralité. La durée d'efficacité du produit n'est pas connue.

#### IV.5. De nombreux désagréments et une efficacité rarement perçue de la Campagne d'Aspersion Intradomestique d'insecticide

Le lien entre la CAID et le moustique (et à fortiori la lutte contre le paludisme) n'est pas fait. La CAID est en effet perçue comme un moyen de lutter contre les petits insectes (puces et cafards principalement), mais pas forcément contre les moustiques. D'autre part, de nombreux désagréments dus aux aspersion ont été rapportés : mauvaises odeurs, maux de tête, dégradations des murs, décès de poules... Enfin, le produit aspergé est souvent perçu comme peu efficace (voire pas efficace du tout) ou efficace mais pendant un temps très limité. Rares sont les personnes qui refusent l'aspersion à leur domicile, car ces campagnes émanent des autorités, et les populations ne veulent pas se distinguer par des comportements récalcitrants.

### V. Equipes participantes

#### ● Madagascar

Institut Pasteur de Madagascar (coordinateur pays et coordinateur général), Centre Population Développement (IRD, Université Paris Descartes, INED), Université Catholique de Madagascar, PNL

#### ● Bénin

IRD- MIVEGEC : Unité Mixte de Recherche « Maladies Infectieuses et Vecteurs : Ecologie, Génétique, Evolution et Contrôle » (IRD 224-CNRS 5290-Universités de Montpellier 1 et 2) (coordinateur pays), Faculté des Sciences de la Santé - Université d'Abomey-Calavi, IRD-UMR 216, Centre de Recherche Entomologique de Cotonou, PNL

#### ● Cameroun

Centre pasteur du Cameroun (coordinateur pays), IRD- Unité Mixte de Recherche « Maladies Infectieuses et Vecteurs : Ecologie, Génétique, Evolution et Contrôle », UMR7300 Espace

#### ● Côte d'Ivoire

Institut Pierre Richet (Min. Santé, coordinateur pays), Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Centre d'Entomologie Médical et Vétérinaire - Université de Bouaké, Centre de Recherche pour le Développement - Université de Bouaké, PNL

#### ● Niger

Centre de Recherches Médicales et Sanitaires (coordinateur pays), PNL

### VI. Publications et Communications orales et affichées :

- Andry Herisoa Andrianasolo. Normes de prévention et de prise en charge formelles et informelles en matière de lutte contre le paludisme à Madagascar. Revue TRANSVERSALES du Centre Georges Chevrier - 7 - mis en ligne le 23 novembre 2015.

**Palu-ASAQ**

Evaluation de l'efficacité thérapeutique de la combinaison Artésunate + Amodiaquine dans le traitement du paludisme non compliqué à Madagascar

Correspondant :

**Milijaona RANDRIANARIVELOJOSIA**Email : [milijaon@pasteur.mg](mailto:milijaon@pasteur.mg)

Tél : +261 20 22 412 72

Date de rédaction

28/04/2016

Co-investigateurs IPM

Lieux des travaux

Madagascar

- **Patrice PIOLA**, unité épidémiologie, [ppiola@pasteur.mg](mailto:ppiola@pasteur.mg)

Budget total

200 000 \$

- **Jemima RAVELONARIVO**, unité paludisme, [jemima@pasteur.mg](mailto:jemima@pasteur.mg)- **Léonora RAVOLANJARASOA**, unité paludisme, [leonoravola@pasteur.mg](mailto:leonoravola@pasteur.mg)- **Aina HARIMANANA**, unité épidémiologie, [aharim@pasteur.mg](mailto:aharim@pasteur.mg)- **Vaomalala RAHARIMANGA**, unité épidémiologie, [rvmalala@pasteur.mg](mailto:rvmalala@pasteur.mg)- **Voahangy ANDRIANARANJAKA**, unité paludisme, [vandrianaranjaka@pasteur.mg](mailto:vandrianaranjaka@pasteur.mg)Date début : **Mars 2014**Date fin : **Sept. 2015**Durée (mois) : **19**

Financements :

**USAID Grant No. AID-687-G-13-00003**Mots clés : **Paludisme, traitement, efficacité****I. Contexte et justification**

La résistance de *Plasmodium sp* aux antipaludiques demeure une menace majeure aux stratégies de lutte antipaludique. Face à l'émergence de *P. falciparum* résistants à l'artémisinine et dérivés en Asie du sud-est, il est crucial de surveiller l'efficacité thérapeutique des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (ACT) à Madagascar selon une méthodologie rigoureuse ; et de typer les marqueurs génétiques de la résistance à l'artémisinine. Les données relatives à l'évaluation de l'efficacité thérapeutique des antipaludiques sont un des éléments nécessaires à la révision de la politique de traitement antipaludique.

**II. Objectifs**

L'objectif principal de cette étude est de documenter la réponse de *Plasmodiumsp* au traitement par ASAQ recommandé pour le traitement du paludisme non compliqué à Madagascar depuis 2006, puis d'évaluer la réponse au traitement en termes d'efficacité parasitologique et clinique à J14, J28 et J42 sur la population tout âge confondus ; de tolérance clinique ; de temps de clairance parasitaire et thermique ; et d'évolution de la gamétocytémie.

**III. Matériels et méthodes**

Il s'agit d'une étude transversale, multicentrique (Mananjary, Farafangana, Kianjavato, Vohitromby). La durée de suivi (pour chaque patient) était de 42 jours. Les participants inclus dans l'étude ont reçu le traitement de première ligne recommandé par le Ministère de la Santé Publique, à savoir la combinaison

artésunate + amodiaquine (ASAQ) pendant 3 jours (J0-J2). Le médicament à tester était l'artésunate-amodiaquine comprimé du laboratoire IPCA.

Il a été prévu d'inclure 50 patients par site d'étude. Le recrutement des patients a été effectué lors du dépistage passif du paludisme parmi les patients suspects du paludisme vus dans le centre de santé de base. Par respect à la politique de lutte contre le paludisme en vigueur à Madagascar, le diagnostic biologique du paludisme a été fait en utilisant le test de diagnostic rapide par bandelette réactive (RDT). La microscopie a été par la suite effectuée pour les RDT positifs.

L'examen microscopique des frottis sanguins a été réalisé sur place. Pour le contrôle de qualité, 10% des frottis sanguins ont été réexaminés à l'unité de recherche sur le paludisme de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM). Des échantillons de sang sur buvard ont été collectés pour la confirmation et la détection des marqueurs génétiques de la résistance de *P. falciparum* notamment à l'amodiaquine et à l'artémisinine selon des procédures communément utilisées à l'IPM.

La parasitémie du patient a été mesurée toutes les 6 heures le premier jour (J0), puis toutes les 12 heures le deuxième jour (J1), et enfin tous les jours à partir de J2. L'hémoglobiniémie a été mesurée à J0, J7, J28 et J42. Le patient a été hospitalisé pendant les 3 premiers jours de suivi, c'est-à-dire, à J0, J1 et J2 pour pouvoir réaliser les prélèvements sanguins pour la confection de frottis mince et goutte épaisse.

La présence d'événement indésirable a été recherchée par l'investigateur à chaque visite. En cas d'événement indésirable grave, l'investigateur devait référer le patient à l'équipe médicale sur place dans le centre de santé et particulièrement au médecin dirigeant le centre de santé. L'investigateur a pris toutes les mesures appropriées pour assurer la sécurité des patients, notamment il devait suivre l'évolution de tout événement indésirable (clinique, biologique ou autre...) jusqu'au retour à la normale ou jusqu'à consolidation de l'état du patient.

La détection des mutations clés associées à la résistance de *P. falciparum* aux antipaludiques a été réalisée sur des isolats de *P. falciparum* collectés. La PCR suivie de séquençage a été utilisée pour le typage de *pfk13*, *pfmdr1* et *pfdhfr* afin de détecter respectivement les marqueurs de résistance à l'artémisinine, aux antifoliniques et aux antifoliques. La PCR a été réalisée à l'Institut Pasteur de Madagascar et le séquençage a été confié à Beckman Coulter Genomics, UK et à GenoScreen, France. Des séquences de bonne qualité ont été obtenues pour 173 isolats de *P. falciparum*.

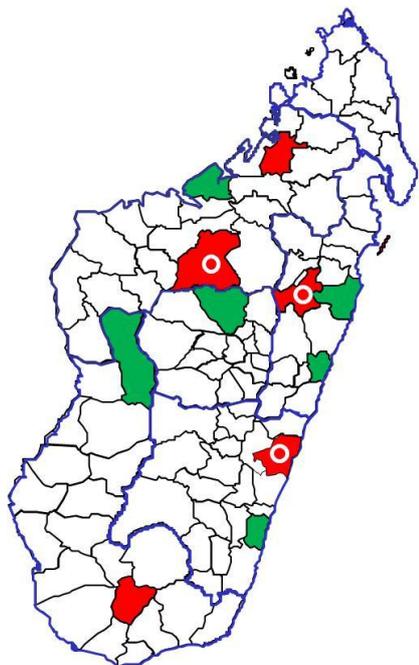
Les séquences d'ADN obtenues ont été comparées à celle de *P. falciparum* 3D7 (gi : XM\_001350122.1 pour *pfk13*, XM\_001351751.1 pour *pfmdr1* et XM\_001351443.1 pour *pfdhfr*) en utilisant Seaview software (Version 4.32.0.0) et CEQ2000 software. Les électrophoregrammes ont été visualisés et analysés avec Chromas Lite software (Version 2.01).

#### IV. Résultats et discussions

Au total, 1 553 patients ont été vus en consultation de juin à octobre 2014 dans les 4 sites d'étude. 244 ont été enrôlés. La moyenne d'âge des patients était de 8,8 ans avec 27,9% de moins de 5 ans (68/244), 60,2% de 5 à 14 ans (147/244) et 11,9% de plus de 15 ans (29/244). 61,1% (149/244) des patients avaient une température supérieure ou égale à 37,5°C et la parasitémie moyenne était de 36 361 parasites/μL de sang à l'enrôlement. Parmi les 244 enrôlés, 222 (91%) ont terminé le suivi de 42 jours. Durant cette étude, aucun échec thérapeutique précoce n'a été constaté ; En revanche, un cas d'échec clinique tardif a été constaté à Farafangana à J35 soit 0,5% par rapport au total des patients qui ont terminé le suivi de 42 jours, 6 (2,7%) cas d'échec parasitologique tardif dont 1 à J35 et 1 à J42 à Farafangana et 4 à J42 à

Vohitromby. Le taux de réponse clinique et parasitologique adéquate sur cette étude était donc de 96,8% sans correction par PCR.

Les résultats du typage des marqueurs génétiques de la résistance de *P. falciparum* à Madagascar ont démontré la présence de mutation sur le gène *pfk13* avec une prévalence de 2% (IC95% : 0,5 - 6,3%). Les mutations connues en Afrique et en Asie 578S et 569T ont été détectées sur la côte sud-est de Madagascar. Ces données complètent les informations disponibles sur l'émergence de *P. falciparum* mutés pour *pfk13* à Madagascar. Une bonne efficacité de la combinaison ASAQ a été démontrée. Il n'y a pas de lien direct entre la présence de mutation et l'échec du traitement à ce stade. Cependant la présence de mutation sur le gène *pfk13* mérite d'être surveillée dans le temps et dans l'espace.



**Vert** : absence de mutant parmi les échantillons examinés.

**Rouge** : présence de mutant parmi les échantillons examinés.

Cercle blanc : présence de mutant communément présent en Afrique parmi les échantillons examinés

**Figure : Distribution géographique de *P. falciparum* mutants *pfk13* à Madagascar entre 2012 et 2014**

Contrairement aux études effectuées avant 2000 qui montraient l'absence de *P. falciparum* résistant à la pyriméthamine à Madagascar, une forte prévalence de triple mutant pour *pfdhfr* (mutation des codons 51, 59 et 108) a été notée dans la côte sud-est de Madagascar [73%, IC95% : 64,9 - 79,8]. L'émergence des parasites potentiellement résistants aux antifolates, qui précède la survenue de l'échec au traitement par l'association sulfadoxine-pyriméthamine est de plus en plus alarmante; d'autant plus que l'automédication par sulfadoxine-pyriméthamine est de plus en plus fréquente à Madagascar. Il est temps de prévoir par anticipation le remplacement de SP pour le TPI dans cinq à 10 ans.

Par rapport aux échantillons collectés à Maevatanana et à Miandrivazo dans le cadre du réseau d'étude de la surveillance de la résistance aux antipaludiques (RER) en 2014, la prévalence de la mutation sur le gène *pfmdr1* est faible sur la côte est de Madagascar (7,4% contre 66%).

## V. Impacts

Les données relatives à l'évaluation de l'efficacité thérapeutique des antipaludiques sont un des éléments nécessaires à la révision de la politique de traitement antipaludique. Le typage des marqueurs génétiques de la résistance à l'artémisinine a permis de mettre à jour la carte indiquant le début de l'émergence des parasites éventuellement résistants à l'artémisinine et ses dérivés et aux ACT.

**PAUSENS****Projet d'Appui aux Secteurs Essentiels de l'Education Nutrition et Santé**

Correspondant :

**Aina HARIMANANA**Email : [aharim@pasteur.mg](mailto:aharim@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction

19/01/2016

Responsables scientifiques IPM

- **Christophe ROGIER**, Directeur, [crogier@pasteur.mg](mailto:crogier@pasteur.mg)- **Milijaona RANDRIANARIVELOJOSIA**, unité Paludisme, [milijaona@pasteur.mg](mailto:milijaona@pasteur.mg)- **Vololomboahangy RAVAOALIMALALA**, unité Helminthiases, [andriv@pasteur.mg](mailto:andriv@pasteur.mg)- **Patrice Piola**, unité épidémiologie, [ppiola@pasteur.mg](mailto:ppiola@pasteur.mg)

Lieux des travaux

Date début : **28/09/2014**Date fin : **19/01/15**Durée (mois) : **5**

Financements :

Banque Africaine de Développement

Budget total

157 977 €

Mots clés : **Filariose, Schistosomiase, Géo helminthiases, prévalence, Amoron'i Mania, Matsiatra Ambony, Androy, Vatovavy Fitovinany, Atsimo Atsinanana**

**I. Contexte et justification**

Dans la cadre du projet PAUSENS financé par la Banque Mondiale, le programme de lutte contre les maladies tropicales négligées (MTN) du Ministère de la Santé Publique (MSANP) mène des activités de chimiothérapie préventive (traitement de masse en médicament, TMM) contre la filariose lymphatique (population âgée de 2 ans et plus), et contre les schistosomiasés et les géo helminthiases (population d'âge scolaire, 5-15 ans) dans 24 districts de 5 régions où ces maladies sont co-endémiques. Afin d'utiliser rationnellement les ressources disponibles mais aussi d'apprécier l'impact de la stratégie adoptée à la fin du projet, il est nécessaire d'évaluer la prévalence et l'importance des maladies concernées et d'apprécier leurs facteurs de risque chez la population bénéficiant de cette chimiothérapie préventive.

**II. Objectifs****II.1. Objectif principal**

Estimer dans 24 districts de 5 régions de Madagascar (Amoron'i Mania, Matsiatra Ambony, Androy, Vatovavy Fitovinany, Atsimo Atsinanana) concernés par le programme PAUSENS i) la prévalence de la filariose lymphatique au niveau de sites sentinelles et de sites de contrôle préalablement choisis selon les recommandations de l'OMS et ii) la prévalence des schistosomiasés et des géo helminthiases au niveau de ces districts.

**II.2. Objectifs secondaires :**

- Estimer l'intensité de l'infection par les filaires lymphatiques, les schistosomes et les géohelminthes, dans les mêmes sites d'étude.
- Identifier les facteurs de risque de ces trois infections et évaluer l'importance des infections par schistosomes et géo helminthes chez les individus plus âgés que ceux de la population cible du projet PAUSENS.

### III. Méthodologie de l'étude

- L'étude s'est déroulée dans 24 districts de 5 régions de Madagascar : Amoron'i Mania, Matsiatra Ambony, Androy, Vatovavy Fitovinany et Atsimo Atsinanana.
- Pour la filariose lymphatique, 33 sites dont 6 sites sentinelles et 27 sites de contrôle ponctuel identifiés par le Programme national d'Élimination de la Filariose Lymphatique (PEFL), ont fait objet d'enquêtes parasitologiques.
- Pour les schistosomiasés et géohelminthiases, 15 fokontany par districts étaient concernés, soient 360 fokontany répartis dans 24 districts.
- La population concernée par l'étude était les individus ayant donné leur consentement (ou pour lesquels leur tuteur avait donné leur consentement) après information : 300 à 350 individus par site âgés de 5 ans et plus, résidents pour la filariose lymphatique, 20 enfants âgés de 5 à 15 ans et 4 individus de plus de 15 ans vivant depuis au moins 6 mois dans chaque site pour les schistosomiasés et géohelminthiases.
- Les participants à l'étude ont répondu à des questionnaires spécifiques pré-testés pour l'étude de la filariose lymphatique ou des schistosomiasés et géohelminthiases.
- Une goutte épaisse par individu a été confectionnée pour la recherche de microfilaires et un échantillon de selles et d'urines par individu étaient préparés pour la recherche de *Schistosoma mansoni*, autres helminthes intestinaux et *Schistosoma haematobium*

### IV. Conclusion

#### IV.1. Infection par les Bilharzioses et les géo helminthiases

360 fokontany ont été visités. L'analyse des résultats par sexe et par âge a été effectuée chez 7114 enfants de 5 à 15 ans et chez 1485 adultes de plus de 15 ans

La prévalence de la schistosomiase à *Schistosoma haematobium* était de 2,5% (variant de 0,3% à 43,2%) chez les enfants de 5 à 15 ans et de 1,5% (variant de 3,3% à 16,4%) chez les adultes de plus de 15 ans. La schistosomiase uro-génitale a été retrouvée dans 10 districts parmi les 24 du projet.

Quant à la schistosomiase intestinale à *Schistosoma mansoni*, la prévalence était de 21,8% (variant de 1 à 72,9%) chez les enfants et 25,6% (variant de 1,5% à 64,4%) chez les adultes, elle a été retrouvée dans l'ensemble des 24 districts du projet.

En considérant la prévalence chez les enfants,

- 2 districts avaient une prévalence élevée  $\geq 50\%$  : Befotaka, Ikalamavony,
- 14 districts avaient une prévalence modérée comprise entre 10 et 50% : Ambalavao, Ambatofinandrahana, Ambohimahaso, Ambositra, Bekily, Fianarantsoa I, Fianarantsoa II, Ifanadiana, Ikongo, Manandriana, Mananjary, Midongy Atsimo, Nosy Varika, Vondrozo
- 8 districts présentaient une prévalence faible  $< 10\%$  : Ambovombe, Beloha, Fandriana, Farafangana, Manakara, Tsihombe, Vangaindrano, Vohipeno

Les géohelminthiases ont été retrouvées dans les 24 districts chez les enfants de 5 à 15 ans avec une prévalence globale de 60,8% et dans 23 districts chez les adultes de plus de 15 ans, avec une prévalence de 54,2%.

La prévalence de l'ascaridiase était de 46,8% chez les enfants et de 38,5% chez les adultes. Chez les enfants, la prévalence était élevée ( $\geq 50\%$ ) dans 13 districts : Befotaka, Farafangana, Fianarantsoa I, Fianarantsoa II, Ifanadiana, Ikongo, Manakara, Mananjary, Midongy Atsimo, Nosy Varika, Vangaindrano, Vohipeno et Vondrozo. Elle était faible ( $< 50\%$ ) dans les 11 autres districts.

La prévalence de la trichocéphalose était de 46,7% chez les enfants et de 39,4% chez les adultes ; elle était élevée ( $\geq 50\%$ ) dans 11 districts : Farafangana, Fianarantsoa I, Ifanadiana, Ikongo, Manakara, Mananjary, Midongy Atsimo, Nosy Varika, Vangaindrano, Vohipeno et Vondrozo. Des prévalences supérieures à 90% ont été retrouvées pour la Trichocéphalose. Elle était faible ( $< 50\%$ ) dans les 13 autres districts.

La prévalence de l'ankylostomiase était de 7,7% chez les enfants et de 7,1% chez les adultes. L'Ankylostomiase a été retrouvée dans 21 districts. La prévalence était comprise entre 20% et 50% pour 4 districts et moins de 20% pour 17 districts.

La prévalence du téniasis était de 0,7% aussi bien chez les enfants que chez les adultes. Le téniasis a été retrouvé dans 15 districts chez les enfants avec une prévalence variant de 0,3% à 2,8% et dans 8 districts avec une prévalence variant de 0,5% à 7,3%

Les autres espèces d'helminthes dépistées étaient l'*Hymenolepis nana* (92 cas) et l'*Enterobius vermicularis* (12 cas)

L'intensité d'infection à *Schistosoma haematobium* était en général faible aussi bien chez les enfants de 5 à 15 ans que chez les adultes de plus de 15 ans ; seulement 35,8% des enfants et 4,8% des adultes avaient une intensité d'infection forte  $\geq 50$  œufs pour 10ml d'urines,

Pour *Schistosoma mansoni*, l'intensité d'infection était faible 1-99 œufs par gramme de selles (opg) chez 49,4% des enfants ayant un prélèvement positif, modérée (100-399 opg) chez 31,8% et forte ( $\geq 400$  opg) chez 18,8%. Chez les adultes, 53,3% avaient une intensité d'infection faible, 30,9% une intensité d'infection modérée et 15,8% une intensité d'infection forte.

L'intensité d'infection était modérée pour *Ascaris lumbricoides* (16472 opg) et pour *Trichuris trichiura* (1420 opg) et faible (325 opg) pour *Ankylostoma*

#### IV.2. Infection par la filariose lymphatique

Au total, 10 920 individus ont participé à l'étude et 31 cas positifs de filariose lymphatique ont été dépistés dans 10 districts.

La prévalence de la filariose lymphatique par district varie de 0,10% à 1,17%. Elle est  $\geq 1\%$  dans les districts d'Ifanadiana, Nosy Varika et Vondrozo

Les cas positifs étaient retrouvés dans :

- 3 sites sentinelles de base pour les districts de Manakara, Vangaindrano et Vohipeno
- 10 sites de contrôle ponctuel pour les districts de Befotaka, Farafangana, Ifanadiana, Manakara, Mananjary, Midongy Atsimo, Nosy Varika, Vangaindrano, Vohipeno et Vondrozo

#### IV.3. Facteurs de risques

Le risque de bilharziose intestinale est significativement plus élevé chez les adultes que chez les enfants (risque augmenté de 30%), chez les individus dont le ménage n'a pas accès à des toilettes (risque augmenté de 43%) et chez les individus qui ont des contacts avec l'eau de surface (risque augmenté de 60%).

L'analyse bivariée montre aussi que ni le TMM au cours des années précédentes ou de l'année précédente, ni la prise individuelle de médicament contre les helminthiases au cours de l'année précédente, n'ont eu d'impact au niveau communautaire ou au niveau individuel après un an ou plus.

Pour la filariose lymphatique, les adultes ont 5 fois plus de risque que les enfants d'être atteints de la filariose. Les personnes de sexe féminin ont plus de risque d'être atteint de la filariose, mais cette association n'est pas significative.

Trois facteurs sont associés à la positivité de la filariose. L'âge et les fausses croyances augmentent le risque, et le niveau de scolarisation est un facteur protecteur.

## V. Impacts

Ces données serviront de mise à jour pour le programme de lutte contre les MTNs du Ministère de la Santé Publique, et devraient permettre de rationaliser les ressources du traitement de masse dans ces 5 régions d'intervention du projet PAUSENS.

**Palu-Diagnostic****Apport du diagnostic biologique dans le contexte de l'élimination du paludisme à Madagascar**

Correspondant :

**Milijaona RANDRIANARIVELOJOSIA**Email : [milijaon@pasteur.mg](mailto:milijaon@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction

28/04/2016

Co-investigateurs IPM

- **Patrice PIOLA**, unité épidémiologie, [ppiola@pasteur.mg](mailto:ppiola@pasteur.mg)- **Elisabeth RAVAOARISOA**, unité paludisme, [elisa@pasteur.mg](mailto:elisa@pasteur.mg)- **Laurence RANDRIANASOLO**, unité épidémiologie, [laurence@pasteur.mg](mailto:laurence@pasteur.mg)- **Patrice PIOLA**, unité épidémiologie, [ppiola@pasteur.mg](mailto:ppiola@pasteur.mg)- **Sébastien BOYER**, unité d'entomologie médicale, [sboyer@pasteur.mg](mailto:sboyer@pasteur.mg)Date début : **Janvier 2015**Date fin : **Déc. 2015**Durée (mois) : **12**

Financements :

**USAID Grant No. AID-687-G-13-00003, Institut Pasteur de Madagascar**Mots clés : **Paludisme, diagnostic, microscopie, TDR, contrôle de qualité**

Lieux des travaux

Madagascar

Budget total

12 000 \$

## I. Contexte et justification

Dans le contexte de l'élimination du paludisme, diagnostiquer avant de traiter est l'idéal dans l'intérêt individuel des malades. Aussi, dans l'intérêt de l'ensemble de la communauté, le recours au diagnostic parasitologique est crucial pour le dépistage actif de l'infection plasmodiale en cas de recrudescence de la maladie ou afin de générer des indicateurs utiles et utilisables pour asseoir les stratégies de lutte contre le paludisme. Ainsi, l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) est impliqué activement dans le contrôle de qualité des tests de diagnostic rapide du paludisme (TDR) et dans la surveillance épidémiologique du paludisme au sens large du terme.

## II. Objectifs

Mettre à jour les indicateurs parasitologiques afin de guider les décideurs dans la réorientation des interventions de lutte contre le paludisme aux niveaux local et national; et promouvoir sur la base de l'évidence l'utilisation des TDR à Madagascar.

## III. Méthodes

Le **contrôle de qualité de l'utilisation et des résultats des TDR** est effectué dans les sites sentinelles de surveillance de fièvres par les superviseurs du ministère de la santé publique et de l'IPM. Les résultats obtenus sur site avec des lots de TDR stockés dans les structures de santé sont comparés à ceux des lots de TDR conservés dans de bonnes conditions à l'IPM. Lors de chaque mission, les frottis sanguins (goutte

épaisse et frottis mince) sont confectionnés ; et des échantillons de sang sont collectés sur papier buvard. La microscopie et la PCR en temps réel sont effectuées à l'IPM. La performance des TDR est évaluée par comparaison à la microscopie et la RT-PCR.

L'IPM s'implique aussi dans l'investigation et la riposte lors des épidémies du paludisme. Notre équipe assure ainsi le **dépistage actif de l'infection plasmodiale**. Aussi, dans un esprit de veille, nous avons effectué un dépistage actif du paludisme à Mangasoavina (District d'Ankazobe et commune de Talatan'Angavo)

## IV. Résultats et discussions

### IV.1. Contrôle de qualité de l'utilisation et des résultats des TDR

Le contrôle de qualité des TDR *per se* a été effectué à l'IPM à la réception des lots de TDR avant de les envoyer dans les centres sentinelles. Le contrôle de qualité sur site a été effectué dans 12 des 34 sites sentinelles pendant la saison de pluie avec la participation de 343 patients vus en consultation pour fièvre et dans 6 sites sentinelles sur 34 pendant la saison sèche sur 174 patients. Pendant la saison pluvieuse, la prévalence de l'infection palustre était de 12% par TDR (43/343) contre 14% (24/174) pendant la saison sèche. Le personnel de santé dans les sites sentinelles a respecté les procédures pour la réalisation des TDR, fruit des séances répétées de formation sur le TDR pour les responsables des centres sentinelles lors des missions de supervision. Les résultats des TDR stockés et utilisés dans les sites sentinelles et ceux des TDR conservés dans des bonnes conditions à l'IPM ont été concordants. La concordance entre TDR et la microscopie était bonne avec un coefficient de Youden de 0,95 pendant la saison sèche et 0,88 pendant la saison pluvieuse. Le personnel de santé dans les centres sentinelles de surveillance de fièvre et ceux qui sont en contact avec ces derniers admettaient progressivement l'intérêt des TDR dans la lutte contre le paludisme à Madagascar.

### IV.2. Le dépistage actif de l'infection plasmodiale

En mai 2015, une mission a été effectuée à Mangasoavina (Ankazobe). 417 villageois (moyenne d'âge : 16 ± 14 ans) ont été examinés. Le TDR (CareStart™) détectant pan-LDH et pfHRP2 a été utilisé pour dépister l'infection palustre. Sur les 139 patients avec TDR positifs (33%), 130 ont affirmé ne pas avoir effectué un déplacement hors du district (Ankazobe) au moins au cours des trois derniers mois précédant l'enquête. La proportion d'individus infectés qui déclaraient dormir sous moustiquaire était de 83% (115/139) contre 17% (24/139) parmi ceux qui n'ont pas dormi sous moustiquaire. L'utilisation des pièges lumineux CDC ont permis de recenser *Anopheles funestus*, *An. gambiaesl*, *An. Mascarensis*. Ces données récentes confirment la « reconquête du paludisme » sur les hautes terres centrales (HTC) au cours de ces dernières années.

## V. Impacts

Les données actuelles confirment la fiabilité des TDR CareStart™. Dans le cadre de l'élimination du paludisme, la facilité d'utilisation et la fiabilité de ces tests s'avèrent très importantes et permettent une riposte rapide en cas de recrudescence et/ou d'épidémie. Malgré les années d'efforts et de programme d'intervention contre le paludisme, la transmission du paludisme persiste à Madagascar et le retour du paludisme sur les Hautes Terres Centrales est inquiétant.

## VI. Publications et Communications orales ou affichées

- Laurence Randrianasolo. Assurance qualité du Test de Diagnostic Rapide du paludisme utilisé dans les centres de surveillance sentinelle des fièvres à Madagascar. Communication orale. 3ème Journées de la Veille Sanitaire dans l'Océan Indien Ile Maurice, 26 et 27 Octobre 2015

**Peste-ASM-MJG****Suivi épidémiologique de la population du vallon Metzinger et ses abords à Mahajanga**

Correspondant :  
**Minoarisoa RAJERISON**

Email : [mino@pasteur.mg](mailto:mino@pasteur.mg)  
Tél : +261 20 22 412 72

Date de rédaction  
30/01/2016

Responsable scientifique

- **Christophe Rogier**, Directeur, [crogier@pasteur.mg](mailto:crogier@pasteur.mg)

Lieux des travaux  
Vallon Metzinger,  
Mahajanga,  
Madagascar

Co-investigateur IPM

- **Soanandrasana RAHELINIRINA**, unité peste, [raheli@pasteur.mg](mailto:raheli@pasteur.mg)

Budget total  
58 980€

- **Inès VIGAN-WOMAS**, unité immunologie des maladies infectieuses,  
[ines@pasteur.mg](mailto:ines@pasteur.mg)

- **Sébastien BOYER**, unité d'entomologie médicale, [sboyer@pasteur.mg](mailto:sboyer@pasteur.mg)

- **Alexandra BASTARAUD**, laboratoire d'hygiène des aliments et

de l'environnement (LHAE), [abastaraud@pasteur.mg](mailto:abastaraud@pasteur.mg)

Co-investigateurs hors IPM

- **Pascal HANDSCHUMACHER**, IRD UMR 912 SESSTIM,  
[p.handschumacher@unistra.fr](mailto:p.handschumacher@unistra.fr)

- **Jean-Marc DUPLANTIER**, Centre de Biologie et de Gestion de Populations, UMR  
22, IRD, [jean-marc.duplantier@ird.fr](mailto:jean-marc.duplantier@ird.fr)

- **Michael RAKOTONDRA SOLO**, Institut Régional de Coopération et de  
Développement Mahajanga, [assma@ircod.org](mailto:assma@ircod.org)

Date début : **Janv 2013**

Date fin : **Janv 2017**

Durée (mois) : **48**

Financements :

**IRCOD**

Mots clés : **Peste, leptospirose, parasitose, assainissement, Madagascar**

## I. Contexte et justification

La mise en place d'infrastructures d'assainissement dans les quartiers défavorisés de Mahajanga répond à des enjeux forts dans une ville caractérisée à la fois par une fréquence élevée de maladies eau-dépendantes et par la circulation de maladies épidémiques liées à l'hygiène comme la peste et le choléra. Chez les consultants de l'hôpital de Mahajanga, dépassant donc le seul cadre de la ville, les protozoaires (47,7 %) et nématodes (23,4 %) étaient particulièrement fréquents. La sérologie amibienne était positive chez 31,2 % des patients et les examens microscopiques étaient positifs dans 12,5 % des cas (Buchy P., 2003). L'actualité est à la crainte d'épidémies de diarrhées et de zoonoses liées à la pullulation des rats, en raison d'importantes lacunes et lenteurs dans le ramassage des ordures. La paralysie du service de ramassage des ordures à Mahajanga en 1990 a été à l'origine de la prolifération de rongeurs qui a fait

le lit de la peste un an après.

La question de l'assainissement tant du point de vue de l'accès à l'eau potable, que de l'évacuation des eaux usées et plus généralement de l'évacuation des déchets constitue un enjeu fort de santé publique. Par sa dimension multiforme, la mise en place d'infrastructures d'assainissement peut alors générer un bénéfice en termes de santé publique dans de multiples dimensions : modification de la fréquence et de la distribution des affections digestives bactériennes et parasitaires, des diarrhées et de la malnutrition infantiles, modification des dynamiques de populations de rongeurs réservoirs d'anthropozoonoses comme la peste.

## II. Objectifs

Evaluer l'impact sanitaire de l'amélioration de l'accès durable à l'assainissement de base (latrines, collecte d'ordures, information-éducation-communication dans le domaine de l'hygiène et de la santé), en particulier sur :

- l'incidence des diarrhées
- la prévalence des infections parasitaires intestinales opportunistes,
- la séroprévalence de la leptospirose
- les densités de rats et de puces et ainsi que les autres indicateurs de risque d'apparition de la peste
- la qualité de l'eau.

## III. Méthodes

### III.1. Population d'étude

L'étude a ciblé les ménages et leurs membres, habitant le vallon Metzinger et ses abords, bénéficiaires ou non d'assainissement durable par Environnement Développement Action/Institut Régional de Coopération et de Développement, ainsi que ceux des zones voisines ne bénéficiant pas de ces interventions.

### III.2. Schéma d'étude

Le schéma d'étude visait à vérifier si les personnes et ménages ayant bénéficié des interventions étaient moins à risque des maladies et infections investiguées, en faisant l'hypothèse que les effets des caractéristiques socio-démographiques, environnementales, comportementales et sanitaires, potentiels facteurs de confusion de l'évaluation de l'impact des interventions, seraient contrôlés au niveau de l'analyse statistique.

En début et en fin d'étude, des ménages exposés aux interventions d'ENDA et des ménages non-exposés aux interventions d'ENDA ont été tirés au sort à partir des bases de sondage établis par ENDA et la communauté. Une enquête a été réalisée auprès des membres de ces ménages.

Des captures de rats et des collectes de puces ont été organisées dans les mêmes ménages.

Les taux d'incidence des diarrhées, de prévalence des infections parasitaires opportunistes, de séroprévalence de la leptospirose, et les densités de rats et de puces ainsi que les autres indicateurs de risque d'apparition de la peste, devraient être comparés entre ménages avec et sans interventions, en tenant compte, en analyse multivariée, des facteurs de confusion potentiels.

#### IV. Résultats

Pour l'inclusion avant l'installation des infrastructures, la séroprévalence globale en anticorps IgG anti-cysticercose est de 9% et en anticorps IgG anti-leptospirose de 3%. Pour ces deux pathologies, une sérologie positive nécessite un autre test de confirmation, mais la quantité et la qualité d'échantillons restant ne nous permettent pas de réaliser des analyses complémentaires.

#### V. Impacts

Cette étude épidémiologique permettra de cibler l'action de façon plus efficace et cohérente, de mesurer les incidences sur la santé des populations et de tirer des recommandations pour la lutte contre les maladies liées à l'hygiène et l'assainissement. La mise en évidence de l'impact sanitaire de ces interventions permettrait d'améliorer le plaidoyer pour leur pérennisation et de justifier l'approche communautaire dans d'autres sites comparables.

**Peste-ATB®**Surveillance de la sensibilité de *Yersinia pestis* aux antibiotiques et caractérisation de la nouvelle souche résistante à la streptomycine

Correspondant :  
**Minoarisoa RAJERISON**

Email : [mino@pasteur.mg](mailto:mino@pasteur.mg)  
Tél : +261 20 22 412 72

Date de rédaction  
30/01/2016

Co-investigateurs IPM

- **Faniry RAKOTOARIMANANA**, unite peste, rfaniry@pasteur.mg

- **Voahangy ANDRIANAIVOARIMANANA**, unite peste, kekely@pasteur.mg

Lieux des travaux  
Madagascar

Budget total  
2 000€

Co-investigateurs hors IPM

- **David WAGNER**, Northern Arizona University (NAU), [dave.Wagner@nau.edu](mailto:dave.Wagner@nau.edu)

- **Florent SEBBANE**, Institut Pasteur de Lille – INSERM

- **Pr Adolphe RANDRIANTSOA** (Directeur de thèse), Université d'Antananarivo

Date début : **Nov 2015**

Date fin : **Nov 2018**

Durée (mois) : **36**

Financements :

**NAU, LCP**

Mots clés : **Peste, *Yersinia pestis*, résistance aux antibiotiques, Madagascar**

## I. Contexte et justification

La résistance aux antimicrobiens survient dans toutes les parties du monde et concerne une gamme croissante d'agents pathogènes. Les conséquences sont graves pour la santé humaine, d'autant qu'il y a peu de produits de remplacement en perspective. Une des préoccupations majeures du programme national de lutte contre la peste (PNLP) à Madagascar est la surveillance de la sensibilité des souches de *Yersinia pestis* aux antibiotiques classiquement utilisables dans le traitement de cette maladie. Le PNLP recommande la chimioprophylaxie des sujets contacts par des sulfamides et le traitement des malades par la streptomycine relayée par des sulfamides. L'émergence d'une souche résistante à la streptomycine et d'une souche multirésistante aux antibiotiques dans le sud des hautes terres en 1995 et la re-émergence d'une autre souche résistante à la streptomycine en 2013 constituent une menace pour la santé publique. Le défi actuellement pour garder notre capacité à lutter contre les bactéries pathogènes dont *Y. pestis* est celui de déterminer les antibiotiques candidats pour remplacer la streptomycine. Dans la même perspective, développer une nouvelle molécule antibactérienne avec un nouveau mécanisme d'action qui contourne les résistances déjà observées (nouvelle cible), sans effets indésirables majeurs, et pouvant être utilisé pour un spectre large de bactéries pathogènes y compris *Y. pestis*. Cette étude fait l'objet d'un sujet de thèse de Mlle Faniry Rakotoarimanana.

## II. Objectifs

- Surveiller la résistance aux antibiotiques des isolats malgaches.
- Etudier le mécanisme de résistance aux antibiotiques des souches résistantes isolées à Madagascar
- Identifier la source de la résistance

- Evaluer les effets d'une palette d'antibiotiques sur les souches résistantes afin d'identifier les potentiels antibiotiques de remplacement. Sélectionner les candidats potentiels pour être utilisés en remplacement à la streptomycine
- Effectuer un essai clinique du meilleur antibiotique sélectionné pour vérifier son efficacité pour le traitement de la peste
- Tester une nouvelle molécule à propriétés antibactériennes sur des isolats de *Y. pestis* et sur d'autres entérobactéries, *in vitro* et *in vivo*. Ces études seront effectuées en vue de déterminer les effets pharmacologiques, le mécanisme d'action, la toxicité de la molécule.

### III. Méthodes

La sensibilité aux antibiotiques des souches isolées au LCP a été faite selon la méthode de Kirby Bauer. Des outils moléculaires ont été utilisés pour déterminer les mécanismes de résistance déjà identifiés. Pour les cas de résistance portés par des plasmides, un inventaire des plasmides de résistance fréquemment rencontrés dans l'environnement de *Y. pestis* (environnement, chez les rats, les puces et l'homme) sera entrepris afin d'évaluer la propagation des résistances et de les comparer avec des gènes de résistances identifiés sur *Y. pestis*. Pour la recherche de traitement alternatif à proposer au PNLP, une étude clinique à deux bras sera entreprise avec l'antibiotique candidat en gardant comme référence la streptomycine.

Les propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétique d'une nouvelle molécule (IP de Lille) seront déterminées *in vitro* puis *in vivo*.

### IV. Résultats et discussions

Sur les 76 isolats de *Y. pestis* testés en 2015, aucun phénomène de résistance n'a été détecté vis-à-vis des 7 antibiotiques testés (Streptomycine (Sm), Gentamycine G, Tétracycline (Tet), Sulfaméthoxazole-trimetoprim (Sul), Chloramphénicol (C), Ampicilline (Amp) et Cyprofloxacin (Cip).

Le gène responsable de la résistance à la Sm est porté par un plasmide transférable pour la souche de 2013. Le séquençage du génome des souches résistantes aux antibiotiques, 56/13 et 17/95, et la PCR est en cours pour déterminer le ou les gènes de résistance. L'étude du mécanisme impliqué dans la résistance est à déduire selon le gène concerné.

### V. Impacts

Les données génétiques vont permettre de comprendre s'il existe un lien entre la souche de *Y. pestis* résistante isolée en 2013 et la souche multirésistante isolée en 1995. Ce projet permettra de prendre les mesures nécessaires par rapport à la circulation des plasmides de résistances.

Un nouveau schéma thérapeutique pourrait être développé à partir de l'étude clinique et de l'étude de la nouvelle molécule antibactérienne.

Peste-FAS		Peste asymptomatique et rôle du système immunitaire de l'hôte	
Correspondant :	Email :	<a href="mailto:mino@pasteur.mg">mino@pasteur.mg</a>	Date de rédaction
<b>Minoarisoa RAJERISON</b>	Tél :	<b>+261 20 22 412 72</b>	30/01/2016
Co-investigateurs IPM			Lieux des travaux
- <b>Samuel ANDRIANALIMANANA</b> , LCP/SLMEN/MSanP, <a href="mailto:asamuel@pasteur.mg">asamuel@pasteur.mg</a>			Madagascar
- <b>Voahangy ANDRIANAIVOARIMANANA</b> , unité peste, <a href="mailto:kekely@pasteur.mg">kekely@pasteur.mg</a>			(foyers Haute-Terre)
- <b>Maherisoa RATSITORAHINA</b> , unité épidémiologie, <a href="mailto:mahery@pasteur.mg">mahery@pasteur.mg</a>			Budget total
			32 000 €
Co-investigateurs hors IPM			
- <b>Elisabeth Carniel</b> , Unité des Yersinia, IP Paris, <a href="mailto:carniel2@pasteur.fr">carniel2@pasteur.fr</a>			
- <b>Alzira Maria Paiva de Almeida</b> , Service de Référence sur la Peste Fiocruz, Brésil, <a href="mailto:aalmeida@cpgam.fiocruz.br">aalmeida@cpgam.fiocruz.br</a>			
- <b>Manuel Jesús Céspedes Zambrano</b> , Institut National de la Santé Pérou, <a href="mailto:mcespedes@ins.gob.pe">mcespedes@ins.gob.pe</a>			
Date début : <b>Nov 2012</b>	Date fin : <b>oct 2015</b>	Durée (mois) : <b>36</b>	
Financements :			
<b>ACIP-A21//2012</b>			
Mots clés : <b>Peste, asymptomatique, réponse, immune, Madagascar</b>			

## I. Contexte et justification

La peste est connue comme une maladie extrêmement grave avec un taux de mortalité élevé chez les humains. Plusieurs évidences passées et récentes suggèrent que les formes asymptomatiques de la peste peuvent exister, mais ces formes possibles sont rares, inconnues ou ignorées. Madagascar déclare chaque année des cas de peste humaine grâce à son système de surveillance fonctionnel et efficace ainsi qu'à son infrastructure en place. Madagascar est probablement le meilleur endroit au monde pour déterminer l'existence et la fréquence de ces formes sub-cliniques. Etant donné que les résultats peuvent varier en fonction du contexte épidémiologique, étendre l'étude aux foyers pesteux du Brésil (un foyer de peste qui apparaît actuellement silencieux) et du Pérou (situation intermédiaire entre Madagascar et le Brésil) pourrait accroître l'intérêt des résultats de cette étude. Le projet a nécessité la collecte de sang humain pour confirmer l'exposition à *Yersinia pestis*, et étudier la réponse immune humorale et cellulaire contre *Y. pestis* chez les humains. Cette dernière composante de la réponse immunitaire a été jusqu'à présent peu étudiée chez l'homme.

## II. Objectifs

- Chercher l'existence de formes asymptomatiques de peste.
- Caractériser la réponse immunitaire cellulaire des individus asymptomatiques exposés à la peste.
- Confirmer la circulation de *Y. pestis* dans la population murine des 3 sites d'étude.

### III. Méthodes

La recherche de la forme asymptomatique de la peste a commencé par l'identification d'individus qui n'ont jamais eu d'antécédent d'infection pesteuse, mais produisent de l'anticorps contre la peste.

Cette approche peut avoir au moins deux biais: i) la présence des anticorps spécifiques de *Y. pestis* peut être due à une infection ancienne déjà oubliée, ii) les réactions croisées possibles avec les antigènes non-pestis pourraient produire une sérologie faussement positive. Trois approches ont été adoptées pour éviter ces biais:

- Collecte de paires de sérum sur chaque participant tiré au sort: un avant la saison de haute transmission de la peste et un autre après la saison. La recherche d'anticorps IgG anti-F1 a été effectuée. Une séroconversion au cours de cette période, sans signe clinique de peste évoque une infection asymptomatique.
- Développement d'autres techniques de confirmation (ELISA et Western blot): pour éliminer les faux positifs en raison des réactions croisées entre l'antigène F1 et les antigènes non-pestis, d'autres antigènes spécifique à *Y. pestis* ont été utilisés (IP Paris).
- Evaluation de la réactivité du système immunitaire contre *Y. pestis* par l'étude de la réponse cellulaire des personnes qui ont présenté une séroconversion.

Par ailleurs, des captures de rongeurs ont été menées dans chaque site d'étude suivant le protocole de capture standard de l'IPM (avril à mai 2015). Deux types de pièges (BTS et Sherman) ont été déposés à l'intérieur des maisons et dans les champs pendant 3 nuits successives, et les rongeurs capturés ont été identifiés, épucés, disséqués et prélevés.

### IV. Résultats (état d'avancement)

Au total 14 participants ont présenté une séroconversion négatif-positif. L'analyse des facteurs d'exposition à la peste nous indique que 2 cas ayant été en contact avec un malade pesteux ont reçu un traitement chimioprophylactique et ont donc été éliminés des formes asymptomatiques (formes « décapitées » d'infection). Etant donné que la forme asymptomatique de peste est inhabituelle, ce nombre important mérite une confirmation. En effet, la spécificité de ces réponses anticorps anti-F1 a été prouvée par test d'inhibition avec l'antigène F1.

La caractérisation de la réponse cellulaire chez les cas présentant une séroconversion est en cours.

La vérification de la circulation de *Y. pestis* après captures de rongeurs dans chaque site ont montré les résultats et indicateurs suivant :

**Tableau 1 : Espèce capturée par site**

	Rattus rattus	Mus musculus	Suncus murinus
Ankazobe I (n=21)	90,5 (19/21)	9,5 (2/21)	0 (0/21)
Amparaky (n=131)	74,8 (98/131)	19,8 (26/131)	5,3 (7/131)
Miandrarivo I (n=65)	61,5 (40/65)	38,5 (25/65)	0 (0/65)

**Tableau 2 : Indicateurs peste**

	Index pulicidien	Séroprévalence %	TDRA F1 rate positif %	Taux de portage <i>Y. pestis</i>
Ankazobe I (n=21)	1,05 (22/21)	5 (1/21)	9,5 (2/21)	0
Amparaky (n=131)	1,48 (194/131)	2,3 (3/129)	7,6 (10/131)	0
Miandrarivo I (n=65)	0,4 (28/65)	4,8 (3/63)	0 (0/65)	0

Ces résultats de capture confirment que le rat noir (*R. rattus*) reste le réservoir qui domine en zones rurales. La séroprévalence par site est de 5% pour Miandrarivo et Ankazobe et de 2% pour Amparaky. Ces séroprévalences ainsi que les rares individus positifs au TDRA confirment une circulation à bas bruit de *Y. pestis* chez les rats des sites d'étude du projet.

## V. Impacts

Ce projet devrait permettre d'améliorer notre compréhension sur la circulation de la peste et sur la réponse à médiation cellulaire de l'hôte humain après cette infection. Si les cas asymptomatiques sont confirmés, cela donnerait une occasion sans précédent de préciser les conditions qui feraient qu'un contact infectieux se transformerait en maladie ou en immunisation silencieuse. Cette information pourrait avoir d'importantes conséquences pratiques, car il peut conduire à des changements dans le système de surveillance de la peste.

Peste-TANA		Surveillance de la peste murine en zone urbaine d'Antananarivo	
Correspondant :	Email : <a href="mailto:kekely@pasteur.mg">kekely@pasteur.mg</a>	Date de rédaction	
<b>Voahangy ANDRIANAIVOARIMANANA</b>	Tél : <b>+261 20 22 412 72</b>	29/02/2016	
Co-investigateur IPM		Lieux des travaux	
- <b>Jean Michel RAZAFIMAHATRATRA</b> , Laboratoire Central Peste		Antananarivo ville	
- <b>Sébastien Boyer</b> , Unité Entomologie Médicale		Budget total	
- <b>Soanandrasana RAHELINIRINA</b> , Unité Peste, <a href="mailto:raheli@pasteur.mg">raheli@pasteur.mg</a>		12 500 €	
Co-investigateurs hors IPM			
- <b>Huguette RAMIAKAJATO</b> , Division Peste, MinSan			
- <b>Ndranto</b> , Bureau Municipal d'Hygiène			
Date début : <b>Avril 2012</b>	Date fin : <b>juin 2015</b>	Durée (mois) : <b>3</b>	
Financements :			
<b>PAUSENS (Banque Mondiale)</b>			
Mots clés : <b>Peste, surveillance, rat, Antananarivo</b>			

## I. Contexte et justification

La surveillance murine dans la ville d'Antananarivo a commencé en 1995 dans le marché de gros de Tsenabe Isotry puis s'est étendue sur 8 autres quartiers en 1997. De 1997 à 2000, les indicateurs sont restés élevés. A partir de 2000, les indicateurs ont mis en évidence une amélioration après la mise en œuvre de mesures publiques d'assainissement. Une diminution du nombre de cas de peste humaine dans la capitale était alors constatée. Malheureusement, cette surveillance s'est arrêtée en 2006 alors que le risque de peste était non négligeable.

## II. Objectifs

L'objectif principal est de fournir les indicateurs de risque de peste nécessaires à la prise de décision et à l'adaptation des mesures de lutte contre la peste à Antananarivo. Ces indicateurs de risque comprennent : la composition par espèce de la population murine qui sert de réservoir, leur séroprévalence par rapport à la peste, la densité des puces et la sensibilité des puces aux insecticides actuellement utilisés et ceux qui pourraient l'être.

## III. Méthodes

Cette surveillance murine a été effectuée du mois d'avril à juin 2015 dans 20 quartiers d'Antananarivo ville. Les campagnes de captures ont été réalisées par des pièges Besançon Technique Service (BTS et nasses à rats) déposés à l'intérieur des habitations des quartiers à risques et dans les marchés communaux de la Commune Urbaine d'Antananarivo pendant 3 nuits successives selon la méthode de capture standard de l'IPM. Les rongeurs capturés ont été identifiés, épucés et un prélèvement sanguin a été effectué sur chacun d'eux.

#### IV. Résultats et discussions

Au total 311 rongeurs ont été capturés avec 433 puces collectées. Les résultats ont montré les proportions suivantes en termes d'espèce capturée: 88,42% (*Rattus norvegicus*), 10,61% (*Suncus murinus*), 0,32% (*Rattus rattus*) et 0,32% (*Mus musculus*). Les puces collectées appartiennent à l'espèce *Xenopsylla cheopis*. L'index pulicidien global qui est le rapport du nombre total de puces collectées sur le total de rongeurs capturés est de 1,4. Cette valeur reste en dessous du seuil d'alerte qui est de 5. La séroprévalence à la peste reste aussi très faible (1,4%). En conclusion, *R. norvegicus* est l'espèce dominante dans la zone urbaine d'Antananarivo ce qui conforte les résultats déjà obtenus par Rahalison et al. en 2003. La puce *X. cheopis* est l'unique vecteur impliqué dans le cycle épidémiologique de la maladie à Antananarivo. Néanmoins, bien que l'index pulicidien et la séroprévalence à la peste restent faibles, la circulation de la peste même à bas bruit n'est pas négligeable. Une surveillance continue de ces indicateurs doit être poursuivie.

#### V. Impacts

Cette surveillance murine a permis de mettre à jour la situation en termes d'indicateurs de la peste dans la ville d'Antananarivo, des informations essentielles afin de suivre l'évolution du risque de réémergence de la peste.

**Peste-IPM****Lutte et surveillance des rats dans l'enceinte de l'IPM et les quartiers avoisinants**

Correspondant :

**Soanandrasana RAHELINIRINA**Email : [raheli@pasteur.mg](mailto:raheli@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction

26/02/2016

Co-investigateurs IPM

- **Sébastien Boyer**, Unité Entomologie, [sboyer@pasteur.mg](mailto:sboyer@pasteur.mg)- **Minoarisoa RAJERISON**, unité peste, [mino@pasteur.mg](mailto:mino@pasteur.mg)

Co-investigateurs hors IPM

- **Steve GOODMAN**, Vahatra, Madagascar- **Rasolohery ANDRIAMBOLANTSOA**, Conservation International- **Matthew BAYLIS**, University of Liverpool, UKDate début : **Avril 2015**Date fin : **Avril 2016**Durée (mois) : **12**

Financements :

**Institut Pasteur de Madagascar**Mots clés : **Peste, dynamique population, rongeurs, puces, Antananarivo**

Lieux des travaux

Antananarivo ville

Budget total

4 000 €

**I. Contexte et justification**

Des surveillances de la peste murine ont été effectuées dans les marchés et quelques Fokontany au niveau des bas quartiers de la Commune Urbaine d'Antananarivo. Elles nous ont permis d'identifier l'espèce dominante en zone urbaine. Aucune étude de la dynamique des réservoirs n'a été effectuée en zone urbaine avec un habitat différent des zones déjà étudiées (une enceinte avec végétation en permanence). Afin d'améliorer la connaissance du cycle de la peste en zone urbaine, un suivi de l'abondance des rongeurs réservoirs et des puces vectrices ainsi que les indicateurs de circulation de la peste ont été menés dans l'enceinte clôturée de l'IPM et le « Fokontany » (Fkt) avoisinant Ambohitrakely. Cette étude entre dans la surveillance de la peste murine en ville et la lutte contre les rats dans l'enceinte de l'institut impliquant les agents des Moyens Généraux.

**II. Objectifs**

- Mesurer le cycle d'abondance des rats et de ses puces afin de déterminer le moment opportun pour la lutte
- Comparer les résultats par rapports au Fkt avoisinant.

**III. Méthodes**

Des séries de captures mensuelles ont été effectuées. Les rats capturés ont été épucés et testés en serologie peste (anticorps IgG anti-F1).

Les rats séronégatifs ont été gardés en élevage pour une étude de susceptibilité des rats vis-à-vis de la peste. Les puces ont été identifiées par l'unité d'Entomologie Médicale.

#### IV. Résultats et discussions

D'avril 2015 à décembre 2015, 185 rats ont été capturés dans l'enceinte de l'IPM et le rat noir (*Rattus rattus*) prédomine dans la population de petits mammifères. De juillet à décembre 2015, 120 rats ont été capturés à Ambohitrakely avec prédominance de rat d'égout (*Rattus norvegicus*)

Les deux espèces vectrices (*Xenopsylla cheopis* et *Synopsyllus fonquerniei*) ont été trouvées dans l'enceinte de l'IPM et dans le Fkt Ambohitrakely avec un index pulicidien (nombre moyen de puces par rat) de 0,9.

**Tableau 3 : Composition des micromammifères capturés par site**

Espèces	Enceinte IPM	Fkt Ambohitrakely
<b>Rattus rattus</b>	122	27
<b>Rattus norvegicus</b>	34	44
<b>Mus musculus</b>	7	32
<b>Suncus murinus</b>	26	17
<b>Puces collectées</b>	179	113

Les autres analyses sont en cours et un suivi de déplacement par marquage à la rhodamine B commencera janvier 2016.

#### V. Impacts

Cette apportera principalement une meilleure compréhension sur l'écologie et l'abondance des rats et des puces et permettra de réduire la densité des rats dans l'enceinte de l'IPM.

**Peste-SELV****Etude écologique et épidémiologique des petits mammifères de Madagascar :  
Approche préliminaire**

Correspondant :  
**Beza RAMASINDRAZANA**

Email : [rbeza@pasteur.mg](mailto:rbeza@pasteur.mg)  
Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction  
22/09/2015

Co-investigateurs IPM

Lieux des travaux  
Madagascar

- **Minoarisoa RAJERISON**, unité peste, [mino@pasteur.mg](mailto:mino@pasteur.mg)
- **Voahangy ANDRIANAIVOARIMANANA**, unité peste, [kekely@pasteur.mg](mailto:kekely@pasteur.mg)
- **Soanandrasana RAHELINIRINA**, unité peste, [raheli@pasteur.mg](mailto:raheli@pasteur.mg)

Budget total  
7 423 €

Co-investigateurs hors IPM

- **Steven M. GOODMAN**, Association Vahatra, Madagascar
- **Voahangy SOARIMALALA**, Association Vahatra, Madagascar
- **Zafimahery RAKOTOMALALA**, Université d'Antananarivo, Madagascar

Date début : **Aout 2015** Date fin : **Déc 2016** Durée (mois) : **16**

Financements :

**Missions de collaboration, Projet Interne Institut Pasteur de Madagascar**

Mots clés : **Rongeurs, forêt, environnement, peste, Madagascar**

## I. Contexte et justification

La peste est une maladie causée par une entérobactérie, appartenant à l'espèce *Y. pestis*. Ce pathogène est à l'origine de plusieurs séries d'épidémies avec une dynamique encore mal comprise. En effet, des foyers réapparaissent comme étant propices au maintien de *Y. pestis*. Par ailleurs, ce maintien ou la propagation de *Y. pestis* dans les différents foyers malgaches est un processus complexe reposant à la fois sur les réservoirs, les vecteurs, le comportement humain et aussi sur les facteurs abiotiques. Un projet d'« Etude des facteurs de risque d'infection aux maladies zoonotiques parmi la population du district de Moramanga (PRIZM) » décrit précédemment aborde une partie de cette problématique, plus précisément la relation entre les facteurs socio-économiques et l'exposition aux zoonoses chez l'homme. Pour ce mini-projet, il est donc important de déterminer, à petite et à grande échelle, l'écologie, la maintenance et la transmission des pathogènes rencontrés chez les petits mammifères, *Y. pestis* en particulier. Ces derniers aspects seront élaborés dans un contexte spatio-temporel tout en développant des protocoles de suivis ponctuels et élargis. C'est en ce sens que nous nous intéressons à une combinaison de l'approche écologique et épidémiologique afin d'émettre des hypothèses liées à la présence et à la maintenance de la peste et d'autres pathogènes. Par ailleurs, d'autres études sur les pathogènes associés aux petits mammifères seront entreprises afin de comprendre les interactions hôte-vecteur-parasites et cartographier la diversité des pathogènes circulants, tout en tenant compte du rôle des facteurs biotiques ou abiotiques dans l'infection et surtout leur implication potentielle en la santé publique.

## II. Objectifs

- Etudier des pathogènes associés (parasites sanguins, bactéries, virus, champignons) aux petits mammifères terrestres et volants ainsi que leur réservoir potentiel ;
- Déterminer des facteurs pouvant influencer la maintenance et la circulation de *Y. pestis* ainsi que les autres pathogènes ;
- Modéliser la relation hôte-parasite à différents niveaux.

## III. Méthodes

### III.1. Collecte d'échantillons biologiques

Les petits mammifères terrestres ont été capturés dans diverses localités de la Grande île. Pour chaque site, des pièges standards (BTS, National, Sherman) ont été déployés. Pour chaque individu capturé la rate a été prélevée et stockée dans un tube de milieu de transport Cary Blair pour le diagnostic bactériologique et moléculaire. Par ailleurs, des gouttes de sang sur du buvard par individu ont été également prélevées pour les analyses sérologiques.

### III.2. Analyse des échantillons biologiques

Le portage de *Y. pestis* a été déterminé sur des échantillons de rate de micromammifères (par TDR, bactériologie). En outre, un test sérologique a été effectué afin d'identifier les traces sérologiques d'une infection. Des confirmations par PCR ont été entreprises notamment dans le cas où les résultats bactériologiques ne permettent pas d'isoler la bactérie. En effet, de nombreuses bactéries peuvent circuler et se mettre en compétition avec *Y. pestis*, rendant ainsi sa culture plus délicate.

## IV. Résultats et discussions

La partie du projet réalisée jusqu'à maintenant entre dans le cadre des missions de collaborations. Les échantillons collectés sur quatre sites à savoir : la Nouvelle Aire Protégée de Tsimembo-manambolomaty, la forêt de Mandrozo, le Parc national de Masoala et le Nosy Ankao sont encore en cours de traitement. Le résultat préliminaire des tests entrepris est reporté dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 1 : Indicateurs peste déterminées sur les individus capturés**

	Nombre d'échantillons testés	Nombre d'individus séropositifs	TDR F1 positifs
Tsimembo-Manambolomaty	14	1	0
Forêt de Mandrozo	2	0	2
Parc national de Masoala	48	0	4
Ankao	77	0	28

Des analyses supplémentaires sont en cours afin de confirmer la prévalence et le taux de portage de *Y. pestis* chez les petits mammifères terrestres de ces localités. Par ailleurs, ces résultats préliminaires nous permettent de constater une infection des petits mammifères terrestres en milieu forestier. Bien que les rongeurs (*R. rattus* et *R. norvegicus*) sont connus comme étant les principaux réservoirs de la peste, le rôle des petits mammifères dans la maintenance de la Peste à Madagascar reste peu exploité et mérite notre attention. Cette étape nous permettra d'orienter la méthodologie à appliquer dans la suite de l'étude écologique et épidémiologique des petits mammifères de Madagascar. Des missions de collectes supplémentaires financées par l'Institut Pasteur de Madagascar seront organisées en 2016.

## V. Impacts

Ce projet nous permettra de comprendre les mécanismes favorisant la circulation de *Y. pestis* en milieu forestier à travers des séries de capture de micromammifères. Il vise également à établir un protocole de suivi écologique et épidémiologique des petits mammifères (autochtones et introduits) de Madagascar.

**Peste-LEPTO****Circulation de la leptospirose chez le bétail dans les tueries d'Antananarivo et de Moramanga**

Correspondant :  
**Soanandrasana RAHELINIRINA**

Email : [raheli@pasteur.mg](mailto:raheli@pasteur.mg)  
Tél : +261 20 22 412 72

Date de rédaction  
26/02/2016

Co-investigateurs IPM

- **Minoarisoa RAJERISON**, unité peste, [mino@pasteur.mg](mailto:mino@pasteur.mg)

- **Sandra TELFER**, unité peste, [stelfer@pasteur.mg](mailto:stelfer@pasteur.mg)

Lieux des travaux  
Antananarivo,  
Moramanga

Budget total  
(PRIZM)

Co-investigateurs hors IPM

- **Michel RAKOTOHARINOME**, Direction des Services Vétérinaires (DSV),  
Madagascar, [dadimichel@gmail.com](mailto:dadimichel@gmail.com)

Date début : **Janv 2015**    Date fin : **Déc 2015**    Durée (mois) : **12**

Financements :

**Wellcome Trust (Fellowship 2011-2016 pour S. Telfer)**

Mots clés : **Leptospirose, zébu, porcs, tueries, Madagascar**

## I. Contexte et justification

La leptospirose est une maladie zoonotique ayant un impact significatif sur la santé humaine et animale dans de nombreuses régions du globe. Elle est causée par une bactérie du genre *Leptospira* qui comprend un grand nombre d'espèces dont la plus importante est *Leptospira interrogans* sensu lato. La source d'infection pour l'homme et les animaux domestiques ou sauvages est la contamination de l'environnement par les animaux (hôtes réservoirs : le plus souvent des rongeurs) qui hébergent les germes dans leurs reins et les excrètent généralement par les urines. Dans les pays développés, la leptospirose fait partie des zoonoses majeures et est l'objet de surveillance chez l'homme et les animaux. Elle est source d'importantes pertes économiques dans les élevages.

A Madagascar, depuis 1969, des sérologies positives avaient été retrouvées chez des bovins et chez des porcs mais aucune souche pathogène n'avait été isolée à partir de la culture de reins. Mais à partir de 2010, des études ont montré la présence de leptospires chez des petits mammifères. Cette étude consiste à rechercher les leptospires chez les bétails afin de pouvoir donner une importance à la protection de la santé humaine et animale.

## II. Objectifs

- Mettre au point des protocoles pour la détection moléculaire et bactériologique des leptospires dans des échantillons de bétail (zébus et porcs)
- Déterminer la prévalence d'infection chez les zébus et les porcs dans les échantillons collectés à partir des tueries à Antananarivo et à Moramanga en utilisant la culture et la PCR.

### III. Méthodes

Des prélèvements de reins, urines et de sang ont été effectués dans les 3 tueries d'Antananarivo (Ankadindratombo, Ampasika et Anosizato) et la tuerie de Moramanga chez les zébus et porcs (de mai au novembre 2015). Les reins ont été passés en culture et qPCR et les sérums ont été gardés à -20° pour une étude ultérieure. Les informations concernant chaque individu inclus ont été collectés.

### IV. Résultats

Au total, 100 zébus et 100 porcs ont été prélevés, soit 25 par tuerie. Dix échantillons de reins de zébu par tuerie ont été passés en culture sur EMJH/5FU soit 40 échantillons. Tous les reins et toutes les urines ont été testés en qPCR. Les résultats pour les urines et les cultures sont en cours et le tableau ci-dessous récapitule les résultats de qPCR réalisées à partir des reins.

Tableau : Récapitulation des résultats qPCR sur les reins de zébus et de porcs collectés

TUERIES	ZEBUS		PORCS	
	Nombre analysés	qPCR positive	Nombre analysés	qPCR positive
Ankadindratombo	25	3 (12%)	25	0
Ampasika	25	3 (12%)	25	0
Anosizato	25	2 (8%)	25	1 (4%)
Moramanga	25	1 (4%)	25	0
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>9 (9%)</b>	<b>100</b>	<b>1 (1%)</b>

### V. Impacts

Ce projet apportera une meilleure compréhension sur les risques de transmission de leptospirose chez le bétail à Madagascar ainsi que sur l'exposition de la population à cette pathologie.

**PRIZM****Zoonoses des rongeurs : facteurs environnementaux et socio-économiques associés aux risques (étude à l'échelle du paysage)**

Correspondant :

**Sandra TELFER**Email : [stelfer@pasteur.mg](mailto:stelfer@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction

29/01/2015

Co-investigateur IPM

Lieux des travaux

Moramanga

- **Minoarisoa RAJERISON**, unité peste, [mino@pasteur.mg](mailto:mino@pasteur.mg)

Budget total

227 941 €

- **Jean-Michel HERAUD**, unité de virologie, [jmheraud@pasteur.mg](mailto:jmheraud@pasteur.mg)

+110 000 €

- **Patrice PIOLA**, unité d'épidémiologie, [ppiola@pasteur.mg](mailto:ppiola@pasteur.mg)- **Sandra TELFER**, unité peste, [stelfer@pasteur.mg](mailto:stelfer@pasteur.mg)- **Soanandrasana RAHELINIRINA**, unité peste, [raheli@pasteur.mg](mailto:raheli@pasteur.mg)- **Fanjasoa RAKOTOMANANA**, unité d'épidémiologie, [fanja@pasteur.mg](mailto:fanja@pasteur.mg)- **Inès VIGAN-WOMAS**, unité immunologie des maladies infectieuses, [ines@pasteur.mg](mailto:ines@pasteur.mg)

Co-investigateurs hors IPM

- **Steve GOODMAN**, Vahatra, Madagascar- **Rasolohery ANDRIAMBOLANTSOA**, Conservation International- **Matthew BAYLIS**, University of Liverpool, UKDate début : **août 2011**Date fin : **août 2016**Durée (mois) : **60**

Financements :

**Wellcome Trust (Fellowship 2011-2016)**Mots clés : **Zoonoses, rongeurs, environnement, risque, Madagascar**

## I. Contexte et justification

La plupart des maladies émergentes dans le monde sont celles véhiculées par les animaux dont les animaux sauvages constituent les réservoirs importants. L'accroissement en effectif de ces derniers forme une menace pour la prolifération des maladies zoonotiques. Les rongeurs se trouvent au premier rang de ces réservoirs. Leur caractère commensal avec une large distribution facilite le transfert des maladies entre eux et autres espèces sauvages, le bétail et les humains.

Les maladies zoonotiques sont plus menaçantes dans les pays en voie de développement, où beaucoup de cas ne sont pas déclarés. La vulnérabilité à ces maladies est influencée par des facteurs environnementaux et socio-économiques dont les changements climatiques et l'exploitation des nouveaux terrains qui peuvent changer les risques d'infection. Les relations entre les différents facteurs socio-environnementaux et le risque de maladie zoonotique sont encore mal connues, en particulier à des échelles locales. Ces échelles sont capitales à la compréhension et à l'atténuation des risques car le processus fondamental de la transmission (à la fois au sein des populations d'hôtes réservoirs et entre réservoirs et les humains)

se produit à cette échelle.

Le projet permettra d'examiner comment les facteurs socio-environnementaux contribuent au risque de zoonoses des rongeurs à Madagascar. Les données archivées et historiques des incidences de la peste humaine à Madagascar, les nouvelles données sur les rongeurs et les infections de l'homme dans divers paysage, et les échantillons de rongeurs seront analysés. Le projet traitera 4 pathogènes véhiculés par les rongeurs dont *Yersinia pestis* responsable de la peste, *Leptospira* sp responsable de leptospiroses, Hantavirus et *Rickettsia typhi* responsable du typhus murin.

## II. Objectifs

- Déterminer comment le climat, l'habitat et le paysage affectent la dynamique hôte-pathogène dans les populations de rongeurs en tenant compte de toute une gamme de pathogènes à différentes voies de transmission.
- Evaluer l'importance relative des facteurs environnementaux et socio-économiques pour le risque d'exposition humaine à ces pathogènes et vérifier si les relations entre ces facteurs et les pathogènes varient.
- Développer des modèles spatiaux pour identifier les populations à haut risque.

## III. Méthodes

L'étude de la dynamique de l'infection au niveau des petits mammifères a fait l'objet d'échantillonnage dans différents types d'habitat (forêt, savoka, village) avec l'autorisation du Ministère de l'eau et forêt (Réf 327/15/MEEF/SG/DGF/DATP/SCBT du 10/12/2015). L'exposition chez l'homme a été déterminée par l'administration de questionnaire (détermination des facteurs de risque) et la collection d'échantillon de sang (détection des marqueurs de l'infection). Ce volet a reçu l'autorisation du CNE (Réf 49/MSAN/CE du 03/07/ 2012). Pour ces deux volets, des suivis transversaux (sur 17 sites) et longitudinaux (sur 3 autres sites) ont été effectués dans 4 communes du district de Moramanga. La partie terrain sera poursuivie jusqu'en décembre 2016.

## IV. Résultats

Pour la période d'exercice, 21 sites situés en forêt et/ou village ont été visités avec au total 3053 micromammifères capturés. Le bilan depuis le début du projet est résumé dans le tableau suivant.

Tableau : Récapitulation des indicateurs observés depuis le début de l'étude

	2013*	2014	2015
<b>Sites visités</b>	5	15	21
<b>Individus capturés</b>	936	2478	3053
<b>Espèces d'appartenance</b>	12	13	12
<b>TDR Peste pos/testés</b>	17/934	81/2417	93/2899
<b>Portage <i>Y. pestis</i> en %</b>	29	3	0
<b>Prévalence en Hantavirose</b>	NT	57 PCR+/217	En cours
<b>Prévalence en Rickettsiose</b>	En cours	En cours	En cours
<b>Prévalence en Leptospirose</b>	58 PCR+/185	216 PCR+/465, 1 souche isolée	70 PCR+/295

\*début du projet aout 2013 (saison sèche)

Depuis le début de l'étude, une circulation à bas bruit de ces zoonoses a été déterminée chez les rongeurs de ce district. Pour le typhus murin, les résultats préliminaires sur quelques sites sont très prometteurs et ont permis de déterminer l'espèce responsable de l'infection à Madagascar. Un article issu de ces résultats est actuellement en révision. Outre la recherche sur les 4 maladies, ce projet nous a permis de réaliser des surveillances régulières de la peste murine dans le district de Moramanga. Des recommandations correspondantes ont été envoyées aux autorités sanitaires. D'autres analyses entre autres détection des endoparasites et identifications des ectoparasites vont être effectuées.

## V. Impacts

Ce projet nous a permis de réaliser une surveillance régulière de la peste murine dans le district de Moramanga. Il apportera principalement une meilleure compréhension des rôles des facteurs socio-environnementaux dans le risque de transmission de maladies zoonotiques transmises par les rongeurs à Madagascar.

**Prot\_Inh-TB****Analyse protéomique des souches *M. tuberculosis* résistantes à l'isoniazide**

Correspondant :  
**Voahangy RASOLOFO**

Email : [vasolof@pasteur.mg](mailto:vasolof@pasteur.mg)  
Tél : +261 20 22 412 72

Date de rédaction  
30/03/2016

Co-investigateurs IPM

- **Marie Sylvianne RABODOARIVELO**, Unité des mycobactéries,  
[msylvianne@pasteur.mg](mailto:msylvianne@pasteur.mg)

Lieux des travaux  
Antananarivo,  
Madagascar.

Co-investigateur hors IPM

- **Dr Anandi MARTIN**, Laboratoire de microbiologie, Université de Gand, Belgique (LM-UGent), [Anandi.Martin@UGent.be](mailto:Anandi.Martin@UGent.be), (coordonnateur du projet multicentrique)

Gand, Belgique

- **Dr Juan Carlos PALOMINO**, **Dr Peter VANDAMME**, Université de Gand, Belgique

Date début : **01/10/2014** Date fin : **01/10/2017** Durée (mois) : **36**

Financements :

**Les Amis des Instituts Pasteur à Bruxelles**

Mots clés : **Isoniazide, *Mycobacterium tuberculosis*, résistance, protéomique quantitative**

## I. Contexte et justification

La connaissance et la compréhension du mode d'action des anti-tuberculeux et des résistance sont importantes pour le contrôle de tuberculose (TB). La protéomique est une approche permettant de comprendre l'état physiopathologique d'un système biologique comme les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques. L'isoniazide (INH), un antituberculeux de première ligne a une efficacité élevée contre les bactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). La résistance à l'INH est un problème pour le traitement de la maladie. Environ 75% des résistances à l'INH sont dues à des altérations ou mutations au niveau des gènes *KatG* et *InhA* et 20-25% à des mécanismes encore indéterminés. La méthode 2D-Liquide Chromatographie (2DLC) – MS/MS (Spectrométrie de masse en tandem) qui est une technique sensible, ayant une résolution élevée pour l'identification des composés protéiques.

## II. Objectif

Explorer les mécanismes d'acquisition de la résistance à l'INH chez les souches *Mtb* par l'approche protéomique, mécanismes qui pourraient contribuer à la recherche d'une nouvelle cible thérapeutique pour la TB.

## III. Méthodes

L'analyse par 2DLC MS/MS a été réalisée dans le laboratoire de microbiologie, Université de Gand, Belgique.

L'extraction des protéines a été faite à partir des souches *M. smegmatis*, *M. fortuitum* et *Mtb*. La méthode 2DLC MS/MS a été utilisée pour l'identification et quantification des protéines. Trois types d'échantillons *Mtb* ont été analysés, chacun en triplicates: une souche sensible, 2 isolats cliniques mono-résistants à l'INH dont l'un ayant des mutations sur les gènes de résistance à l'INH connus et l'autre sans mutation. Les échantillons ont été analysés sous deux conditions différentes: traités avec l'INH et non traités. Pour chaque condition, le protéome de chaque isolat clinique résistant à l'INH a été comparé à celui de la souche sensible. Les protéines exprimées de manière différentielle ( $p < 0.005$ , ANOVA) entre les échantillons résistants et sensibles ont été considérées.

#### IV. Résultats

La méthode de lyse par sonication suivie d'un broyage à billes a donné le meilleur rendement en protéines. Des protéines intactes (pas de dégradation) ont été observées par SDS PAGE. Un faible taux de faux positifs (2%) a été constaté lors de l'identification des protéines dans la base de données protéiques de *Mtb* H37Rv, souche de référence. Une faible variation de l'intensité des signaux MS/MS identifiés (10%) a été observée pour chaque run, confirmant une certaine reproductibilité. L'analyse des résultats de l'étude protéomique des souches *Mtb* résistantes à l'INH comparées à la souche sensible est en cours.

#### V. Impacts

Ces informations pourront être utiles pour le développement de nouvelles cibles thérapeutiques et de nouveaux marqueurs de la résistance à l'INH.

**RIFT-Antsohihy****Compréhension des mécanismes de transmission de la Fièvre de la Vallée du Rift dans un site pilote de Madagascar**

Correspondant :

**Soa Fy ANDRIAMANDIMBY**Email : [soafy@pasteur.mg](mailto:soafy@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72****Marie-Marie OLIVE**Email : [mmolive@pasteur.mg](mailto:mmolive@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72**

Co-investigateurs IPM

- **Jean-Michel HERAUD**, unité de virologie, [jmheraud@pasteur.mg](mailto:jmheraud@pasteur.mg)
- **Sébastien BOYER**, unité entomologie médicale, [seboyer@pasteur.mg](mailto:seboyer@pasteur.mg)
- **Luciano Tantely**, unité entomologie médicale, [lucinambi@pasteur.mg](mailto:lucinambi@pasteur.mg)
- **Fanjasoa RAKOTOMANANA**, unité épidémiologie, [fanja@pasteur.mg](mailto:fanja@pasteur.mg)

Co-investigateurs hors IPM

- **Cécile VIGNOLLES**, Centre National d'Etudes Spatiales (CNES), France
- **Véronique CHEVALIER**, CIRAD, UR AGIRs, France
- **Jean-Pierre LACAUX**, Laboratoire d'Aérologie, CNRS/ Université Paul Sabatier, France

Date début : **1/09/2014**Date fin : **31/12/2016**Durée (mois) : **27**

Financements :

**CNES ; Projet Internet IPM ; Grant Dedonder Clayton**Mots clés : **Fièvre de la Vallée du Rift, vecteurs, Mécanismes de transmission, télédétection, Madagascar****Date de rédaction**

18/02/2016

**Lieux des travaux**

Antsohihy

**Budget total**

44 000€

**I. Contexte et justification**

La Fièvre de la Vallée du Rift (FVR) est une arbovirose zoonotique affectant principalement les ruminants domestiques et provoquant des épizooties sévères (avortement, augmentation de la mortalité chez les jeunes ruminants). L'homme peut être infecté par piqûre de moustiques ou par contact direct avec des produits issus d'animaux infectés (avortons, sécrétions). Les vecteurs du virus de la FVR (VFVR) sont nombreux (EFSA, 2005). A Madagascar, le VFVR a provoqué des épidémies et épizooties en 1990-1991, puis en 2008-2009.

Malgré les nombreuses études menées depuis la dernière épizootie à Madagascar, les conditions et facteurs d'émergence, de persistance et de dissémination virale dans les différents écosystèmes, demeurent inconnus.

Le projet ZORA/FAO-RVF s'attache à comprendre et expliquer l'épidémiologie de la FVR à l'échelle nationale de Madagascar. Cependant, des travaux spécifiques à chacun des écosystèmes sont nécessaires pour comprendre les mécanismes de transmission du VFVR à l'échelle locale et proposer des méthodes de lutte appropriées à chacune des zones de Madagascar.

L'écosystème identifié au départ était situé au Sud-Ouest de Madagascar car des séroconversions avaient été observées en 2010-2011. Le VFVR semblait s'être installé dans un environnement composé de mares temporaires, permanentes où l'élevage de ruminants était conséquent. Cependant l'analyse réalisée dans le cadre du projet ZORA/FAO-RVF a montré une situation relative à la FVR, peu claire dans cette région (pas d'évolution de la séroprévalence en fonction de l'âge) et que l'environnement sec du Sud-Ouest était défavorable à la transmission du VFVR chez l'humain et les bovins.

## II. Objectifs

Cette étude a pour objectif la compréhension des mécanismes mis en jeu dans le cycle de transmission, l'estimation des paramètres de transmission et les risques d'émergence de la FVR dans un site pilote de Madagascar :

- une étude de terrain et l'analyse des données récoltées permettront l'identification des facteurs clés (entomologiques, virologiques, épidémiologiques) impliqués dans le cycle de transmission du VFVR;
- une étude de télédétection permettra d'identifier les changements de l'environnement (évolution des mares, changement de la végétation) et les changements climatiques au niveau local (pluviométrie, température) associés à l'émergence du VFVR

## III. Méthodes

L'année 2014 a été consacrée à la réévaluation du choix du site où les travaux seront mis en place.

Ainsi, afin de s'assurer que nous travaillerons dans une zone où la FVR est endémique chez les ruminants et ainsi décrire et identifier les composantes entomologiques et environnementales associées à cette circulation endémique nous avons réévalué la situation relative à la FVR dans les différents écosystèmes de Madagascar.

Des enquêtes et prélèvements ont été réalisés d'avril à juin 2014, dans 5 districts appartenant à des écosystèmes différents de Madagascar :

- Antsohiy (AHH ; écosystème sub-humide du moyen ouest);
- Tsiroanomandidy (TDD ; écosystème humide des hauts-plateaux);
- Morombe (MRB ; écosystème semi-aride du sud-ouest);
- Tulear (TOL ; écosystème semi-aride du sud-ouest) ;
- Farafangana (FAR ; écosystème humide du sud-est).

Afin de déterminer si la transmission du VFVR se faisait toujours chez les ruminants depuis les épizooties de 2009 (et donc si la circulation est enzootique) nous avons ciblé les animaux nés après 2009. Ainsi, dans chacun des sites nous avons échantillonné 30 animaux des classes d'âge de [0-1an]; ]1-2ans]; ]2-3ans]; ]3-4ans]; ]4- 5ans]. Nous avons également échantillonné 100 animaux de la classe d'âge de plus de 5 ans. Suite à des problèmes de réactifs, seule une partie des sérums a pu être analysée, nous avons donc ciblé les prélèvements venant d'animaux d'âges inférieurs à 4 ans. Au total, 635 des 1309 prélèvements obtenus ont été analysés.

## IV. Résultats et discussions

Les résultats préliminaires montrent des individus de moins de 2 ans séropositifs (donc probablement infectés entre 2012 et 2014) dans les sites d'AHH, TDD, TOL et FAR (Tableau). Cependant, nous observons une augmentation de la séroprévalence (SP) avec l'âge, statistiquement significative seulement dans les sites d'AHH et TDD ( $p < 0.05$  pour les deux sites).

Le site d'Antsohihy semble le plus adéquat pour mettre en place une étude à l'échelle locale : (1) nous observons des individus de moins de 2 ans séropositifs ; (2) nous observons une augmentation statistiquement significative de la SP avec l'âge ( $p < 0.05$ ) ; (3) le site semble favorable aux vecteurs (zone humide, points d'eau temporaires et permanents, rizières ; figure 2) ; (4) le district est une zone de rassemblement de zébu (marché) et donc potentiellement à risque de diffusion de FVR.

L'étude qui a été mise en place contribuera à une meilleure compréhension des facteurs favorisant le maintien et la circulation du VFVR dans la région d'Antsohihy. La circulation du virus étant dépendante de facteurs socio-économique (systèmes d'élevage, commerce de ruminants), environnementaux et climatiques (dont dépendent la dynamique des vecteurs), nous avons donc une approche pluridisciplinaire prenant en compte ces facteurs. Ainsi, des enquêtes épidémiologiques (suivi sérologiques de bovins et de petits ruminants, des pratiques d'élevage), un suivi entomologique dynamique (captures de moustiques tous les mois en saison des pluies et tous les 3 mois en saison sèche) et un suivi de l'environnement (suivi des mares et de la végétation par télédétection, validations de terrain) ont été mis en place en février 2015 et s'est terminé en janvier 2016.

Les analyses de laboratoires du suivi de bovin sont en cours.

Les résultats du suivi entomologique sont présentés par l'Unité d'Entomologie Médicale.

		Positif	Total	SP
ANSTOHIHY		12	123	9,8
TRANCHE AGE (année)	[0 - 1]	1	31	3,2
	[1 - 2]	2	31	6,5
	[2 - 3]	3	30	10,0
	[3 - 4]	6	31	19,4
FARAFANGANA		10	133	7,5
TRANCHE AGE (année)	[0 - 1]	2	40	5,0
	[1 - 2]	1	32	3,1
	[2 - 3]	5	30	16,7
	[3 - 4]	2	31	6,5
MOROMBE		4	124	3,2
TRANCHE AGE (année)	[0 - 1]		31	0,0
	[1 - 2]		31	0,0
	[2 - 3]	1	31	3,2
	[3 - 4]	3	31	9,7
TSIROANOMANDIDY		14	128	10,9
TRANCHE AGE (année)	[0 - 1]		33	0,0
	[1 - 2]	3	29	10,3
	[2 - 3]	4	31	12,9
	[3 - 4]	7	35	20,0
TULEAR 2		17	127	13,4
TRANCHE AGE (année)	[0 - 1]	3	31	9,7
	[1 - 2]	3	33	9,1
	[2 - 3]	8	32	25,0
	[3 - 4]	3	31	9,7
TOTAL GENERAL		57	635	9,0

## V. Impacts

Cette étude en cours s'attache à comprendre et expliquer l'épidémiologie de la FVR à l'échelle nationale de Madagascar afin d'en améliorer éventuellement le contrôle.

## VI. Production scientifique

### VI.1. Communication orale

**Olive MM, Grosbois V, Tran A, Nomenjanahary LA, Rakotoarinoro M, Heraud JM, Chevalier V** (2016). Enzootic and epizootic rift valley fever epidemiological patterns in Madagascar. Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine (SVEPM) Annual Conference 2016. March 16-18, 2016, Elsinor, Danemark.

**SLIDE-DNA**

Détection moléculaire de la résistance aux anti-tuberculeux de *Mycobacterium tuberculosis* à partir d'échantillons conservés sur différents supports, Madagascar.

Correspondant :  
**Voahangy RASOLOFO**

Email : [vasolof@pasteur.mg](mailto:vasolof@pasteur.mg)  
Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction  
30/03/2016

Co-investigateurs IPM

- **Marie Sylvianne RABODOARIVELO**, Unité des mycobactéries,  
[msylvianne@pasteur.mg](mailto:msylvianne@pasteur.mg)

Lieux des travaux  
Antananarivo,  
Madagascar.

Gand, Belgique

Co-investigateur hors IPM

- **Dr Anandi MARTIN**, Laboratoire de microbiologie, Université de Gand, Belgique (LM-UGent), [Anandi.Martin@UGent.be](mailto:Anandi.Martin@UGent.be), (coordonnateur du projet multicentrique)

Budget total  
€ 27 000

- **Dr Juan Carlos PALOMINO**, **Dr Peter VANDAMME**, Université de Gand, Belgique

- **Dr Nora Morcillo**, **Dr Belen Imperiale**, Hospital Dr. Cetrángolo, Buenos Aires, Argentine

- **Dr Sarman Singh**, All India Institute of Medical Sciences, Department of Laboratory Medicine, Delhi, Inde

- **Dr Lucilaine Ferrazoli**, **Angela Brandao**, Instituto Adolfo Lutz, Núcleo de Tuberculose e Micobacteriosis, Sao Paulo, Brésil.

Date début : **01/05/2013** Date fin : **30/12/2015** Durée (mois) : **30**

Financements :

**Fondation Damien**

Mots clés : *M. tuberculosis*, multirésistance, **Genotype MTBDRplus**, **FTA card**, **GenoCard**, lames

## I. Contexte et justification

Dans les pays en voie de développement, le diagnostic de tuberculose (TB) est basé sur l'examen microscopique du crachat. Cependant, en raison de l'absence de tests rapides, adéquats et d'équipements spécifiques, le traitement de la TB commence avant ou sans l'obtention des résultats des tests de référence : la culture et les tests de sensibilité aux médicaments (DTS) qui requièrent quelques semaines, ce qui rend difficiles le diagnostic et la surveillance des résistances. Il existe actuellement des tests moléculaires pour la détection des TB-MDR, réalisés directement sur les crachats, et permettant de s'affranchir de la culture. Toutefois, pour des enquêtes de résistance à l'échelle d'un pays, se pose le problème de collecte et de transport des échantillons biologiques potentiellement infectieux.

## II. Objectif

Etudier la faisabilité de la détection moléculaire de la résistance à la rifampicine (RIF) et l'isoniazide (INH) à partir d'ADN extrait de crachats conservés sur systèmes simples de transport comme les lames et les cartes de papier filtre.

## III. Méthode

- 1) Evaluation de la méthode d'extraction d'ADN à partir de différents systèmes de transport (lame de microscopie, GenoCard, carte FTA, éthanol) pour la détection de la résistance à la RIF et à INH en utilisant le test commercialisé : Genotype MTBDR*plus*. i) à partir de suspensions de souches *Mtb* et ii) de crachat infectés artificiellement par la même souche *Mtb* (étude multicentrique sur 200 échantillons de 4 sites d'étude).
- 2) Etude prospective sur des isolats cliniques des patients TB disponibles au laboratoire des Mycobactéries de l'IPM.

## IV. Résultats

Une étude préliminaire sur la standardisation de la méthode d'extraction d'ADN, avec 6 souches *Mtb* (3 MDR et 3 sensibles) et 4 souches de mycobactéries non tuberculeuses a été réalisée. Le test de viabilité a montré que sur les lames de microscopie colorées, aucune bactérie n'est vivante alors que sur les cartes FTA et Genocard, les bactéries doivent être désactivées par ajout d'éthanol 90°. Le profil de la sensibilité à RIF et/ou à INH est bien détecté par le test Genotype MTBDR*plus*, et concorde avec celui de la DST, quand on utilise des suspensions de souches *Mtb*. L'évaluation réalisée sur 50 crachats infectés artificiellement avec 50 souches *Mtb*, déposés sur les 4 systèmes a montré que la sensibilité et la spécificité du test pour la détection de la résistance à la RIF et l'INH variaient respectivement 95% à 100%, pour INH et entre 95% et 98% pour le RIF. Aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les 4 supports de transport.

## V. Impacts

Possibilité de mettre à disposition du Programme de Lutte contre la TB une nouvelle méthode rapide de détection de la résistance aux antibiotiques et d'apporter une solution dans le problème posé par les limites de transport et de stockage des échantillons.

## VI. Productions scientifiques

### VI.1. Publications

- Performance of four transport and storage systems for molecular detection of multidrug-resistance tuberculosis" Marie Sylvianne Rabodoarivelo, Belén Imperiale, Rina andrianiavomikotroka, Angela Brandao, Parveen Kumar, Sarman Singh, Lucilaine Ferrazoli, Nora Morcillo, Voahangy Rasolofo, Juan Carlos Palomino, Peter Vandamme, Anandi Martin. [PLoSOne](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139382). 2015 Oct 2;10(10):e0139382.

## VI.2. Communications affichées

- **MS Rabodoarivelo**, B Imperiale, R Andrianavomikotroka, A Brandao, P Kumar, S Singh, L Ferrazoli, N Morcillo, **V Rasolofo**, JC Palomino, P Vandamme, A Martin. Performance of four transport and storage systems for molecular detection of multidrug-resistance tuberculosis. 36ème Congrès European Society of Mycobacteriology (ESM) à Riga, Latvia, 28 juin-01 juillet 2015.
- **MS Rabodoarivelo**, B Imperiale, R Andrianavomikotroka, A Brandao, P Kumar, S Singh, L Ferrazoli, N Morcillo, **V Rasolofo**, JC Palomino, P Vandamme, A Martin. Feasibility of four transport and storage supports for molecular detection of multidrug resistant tuberculosis. Scientific Symposium of the Institut Pasteur International Network. Institut Pasteur à Paris, 14-16 octobre 2015.

## VI.3. Communication orale

- **V Rasolofo**, **MS Rabodoarivelo**, **NH Ratovonirina**, **S Razafimahatratra**, JC Palomino, C Sola, **F Rakotomanana**, A Martin. Challenges in setting-up molecular diagnostic tools for tuberculosis drug resistance detection and epidemiology studies in low-income countries. 36th Annual Congress of the European Society of Mycobacteriology, Riga, Latvia. 28 juin – 1er juillet 2015.

**SENTFI****Réseau de surveillance sentinelle des maladies à potentiels épidémiques à Madagascar**

Correspondant :

**Patrice PIOLA**Email : [ppiola@pasteur.mg](mailto:ppiola@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72****Laurence RANDRIANASOLO**Email : [laurence@pasteur.mg](mailto:laurence@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72**

Co-investigateurs IPM

- **Léa RANDRIAMAMPIONONA**, DVSSE, unité d'épidémiologie, [leabricette@pasteur.mg](mailto:leabricette@pasteur.mg)

- **Charles RAMAROKOTO**, unité d'épidémiologie, [charlesr@pasteur.mg](mailto:charlesr@pasteur.mg)

- **Toky RAMAROKOTO**, unité d'épidémiologie, [rtheri@pasteur.mg](mailto:rtheri@pasteur.mg)

Co-investigateur hors IPM

- **Judith HEDGE**, CDC Resident Advisor in Madagascar

- **Centre National de Lutte contre le Paludisme**

- **Direction de Veille Sanitaire et de Surveillance Epidémiologique**

Date début : **10/04/2007**      Date fin : **Activité continue**

Financements :

- **President's Malaria Initiative (PMI) via RTI International - Subcontract number : 18-330-0210502**

- **CoAgreement CDC- 1 U01 GH000077-01**

- **CoAgreement CDC 5U01 GH000077-02**

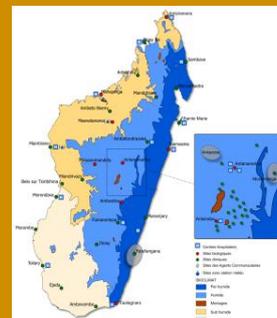
- **USAID n°AID-687-G-13-00003**

Mots clés : **Surveillance, SMS, fièvre, Madagascar**

Date de rédaction

20/04/2016

Lieux des travaux



Budget 2014-2015

261 081 €

**I. Contexte et justification**

L'épidémie de Dengue et de Chickungunya, dans les régions nord et Est de Madagascar en 2006, témoignait de la faiblesse du système de surveillance à Madagascar et incitait le Ministère de la santé publique à le renforcer pour répondre aux exigences du nouveau règlement sanitaire international de 2005. Par ailleurs, l'actualité internationale sur le risque de pandémie de grippe aviaire justifiait l'association de la surveillance sentinelle des maladies à potentiels épidémiques au niveau des centres de santé de base (CSB) à celle des hôpitaux. Il s'agissait d'un réseau de surveillance sentinelle complémentaire aux systèmes de surveillance de routine du ministère de la santé.

## II. Objectifs

Disposer d'un système sentinelle d'alerte précoce permettant de déclencher une riposte rapide, qui permettrait aussi de disposer des données régulières en temps quasi-réel, de mesurer la part du paludisme et de la grippe dans l'étiologie des syndromes fébriles et de mettre en évidence l'agent causal en circulation.

## III. Méthodes

Le réseau de surveillance sentinelle disposait de trois niveaux : un réseau hospitalier, un réseau de CSB et un réseau des agents communautaires (AC). Au niveau CSB, la déclaration était journalière par *short message system* (SMS) sur le nombre de consultants, de fièvres, de paludisme confirmé par test de diagnostic rapide du paludisme (TDR), de syndrome dengue-like (SDL ou suspicion d'arboviroses), de syndromes grippaux et de diarrhées. Au niveau hospitalier, il s'appuyait sur une déclaration hebdomadaire du nombre d'admissions et de décès par la saisie des données de registres d'hospitalisations et de décès, permettant ainsi le suivi du paludisme et de l'infection respiratoire aigüe et sévère (SARI). Au niveau des AC, la surveillance intéressait toutes les classes d'âge et la déclaration était journalière par SMS sur le nombre de consultants, de fièvres, de paludisme confirmé par TDR, de malades transférés au CSB et de cas de décès. Ces données étaient saisies dès réception dans une base de données et étaient analysées en temps quasi-réel pour la recherche de modifications de tendances. Une situation anormale était définie comme une augmentation d'indicateur ou par la mise en évidence de circulation d'un agent pathogène. Ce système était couplé à une surveillance biologique des arboviroses et de la grippe permettant l'isolement et la caractérisation des virus. Il servait d'appui pour la collecte de souches plasmodiales en vue de la surveillance de la chimiorésistance des plasmodies aux antipaludiques.

## IV. Résultats et discussions

En 2015, la surveillance sentinelle reposait sur 18 centres hospitaliers et 54 CSB répartis sur toutes les zones bioclimatiques de Madagascar. Un réseau de 107 AC participait à la surveillance du paludisme et de la mortalité dans des zones rurales à : Farafangana, Moramanga, Ankazobe et Ambalavato Sud.

Au niveau du réseau de CSB, les syndromes fébriles représentaient 15,3% (46 449/302 713) des consultants. La part des syndromes grippaux, du paludisme, des syndromes diarrhéiques et de la suspicion d'arboviroses représentaient respectivement 27,3%, 23,3%, 6,9% et 1,7% des fièvres (les résultats sont disponibles dans le journal Epiveille décembre 2015). Le taux d'utilisation du test de diagnostic rapide du paludisme était de 94,7% des fièvres. La moyenne de complétude était de 88,9% et de la promptitude était de 36,7%.

Dans des zones rurales isolées gérées par le réseau des AC, la part du paludisme était de 56,8% (11 258/19 820) des consultants, le nombre de malades référés au CSB était de 5 336 et le taux de mortalité lié au paludisme était de 9,3% (21/227). Ce réseau d'AC avait permis un suivi du paludisme dans des zones rurales. La moyenne de complétude était de 90,9% et de la promptitude était de 61,2%.

Au niveau des 18 centres hospitaliers sentinelles, la fièvre constituait 31,9% (11 953/37 515) d'admissions. Le paludisme et SARI représentaient respectivement 5,8% (2 167/37 515) et 0,6% (211/37 515) des malades admis à l'hôpital. Aucun cas suspect de grippe aviaire n'a été déclaré.

Au cours de l'année 2015, des centres hospitaliers ont rencontré des problèmes de connexion et d'organisation en interne de la saisie des données entraînant une diminution de la complétude à 79,1% et de la promptitude à 57,0%.

## V. Impacts

Ce réseau sentinelle de surveillance a permis d'objectiver des phénomènes épidémiologiques anormaux pouvant menacer la santé des populations. Soixante-dix-neuf situations anormales ont été détectées : 59,4% (47/79) pour le paludisme, 24,1% (19/79) pour diarrhée, 11,4% (9/79) pour syndrome grippal, 3,8% (3/79) pour PFA et 1,3% (1/79) pour les décès. Les examens biologiques ont montré la circulation de virus de la Dengue, virus de Chickungunya et des virus grippaux (saisonniers et A/H1N1pdm). 91% de ces situations anormales ont été contrôlées au niveau local par le district sanitaire (72/79).

## VI. Mise en perspective de l'impact de l'activité

A Madagascar, le système d'information sanitaire est peu performant faute de moyen de communication efficace et d'une insuffisance de personnels compétents. En matière de surveillance épidémiologique de routine, la promptitude et la complétude des rapports restent faible. D'où la place du réseau de surveillance sentinelle des maladies à potentiel épidémique qui bénéficie des appuis financier et technique permettant d'avoir des données de qualité.

## VII. Publication

- Alonso WJ, Guillebaud J, Viboud C, Razanajatovo NH, Orelle A, Zhou SZ, Randrianasolo L, Heraud JM. Influenza seasonality in Madagascar: the mysterious African free-runner. *Influenza Other Respir Viruses*. 2015 May;9(3):101-9.

## VIII. Faits marquants de l'année

En mars 2015, rupture de stock en ACT et RDT au niveau du CNLP

En juillet 2015, réunion annuelle des responsables des centres sentinelles et des Agents Communautaires à Antananarivo pour l'utilisation d'un smartphone Android pour le transfert des données et de la réception des retro informations et inclusion PFA dans la maladie à surveiller.

En août 2015, inclusion de 20 nouveaux sites sentinelles dans les Hautes Terres Centrales dans des communes classées en phase de pré-élimination de paludisme.

En novembre 2015, mise en place de sites de surveillance du paludisme par des Agents Communautaires à Ambalavato Sud –Farafangana (antécédent d'épidémie de paludisme dans cette commune en janvier 2015).

SSDS		Système de suivi démographique et sanitaire à Moramanga (Madagascar)	
Correspondant :	Email : <a href="mailto:rila@pasteur.mg">rila@pasteur.mg</a>	Date de rédaction	
<b>Rila RATOVOSON</b>	Tél : +261 20 22 412 72	25/04/2016	
Co-investigateurs IPM		Lieux des travaux	
- <b>Patrice PIOLA</b> , unité d'épidémiologie, <a href="mailto:ppiola@pasteur.mg">ppiola@pasteur.mg</a>		District de Moramanga	
- <b>Rindra RANDREMANANA</b> , unité d'épidémiologie, <a href="mailto:randrem@pasteur.mg">randrem@pasteur.mg</a>			
Co-investigateur hors IPM			
- <b>Gilles PISON</b> , INED France, <a href="mailto:pison@ined.fr">pison@ined.fr</a>			
Date début : <b>1/10/2012</b>			
Mots clés : <b>Madagascar, suivi, démographie, santé</b>			

## I. Contexte et justification

Les systèmes de suivi démographique et de santé (SSDS) demeurent un outil nécessaire dans les contextes où les systèmes de recensement sont imparfaits. Ces observatoires de population ont montré leur importance et leur fiabilité dans les pays en développement, où la charge de morbidité et de mortalité est élevée. Dans ces pays, comme à Madagascar, il n'existe pratiquement pas d'enregistrement de naissances ni de décès, il existe d'importants problèmes d'accessibilité aux soins (inaccessibilité géographique, ressources financières limitées, faiblesse du système d'information...). A cette méconnaissance s'ajoute le manque d'informations sur l'état de santé des populations. Les données pouvant être recueillies dans le cadre d'un SSDS, ne se limitent pas seulement aux données démographiques, d'autres informations sur les facteurs de risque de maladies peuvent y être collectées. Moramanga a été désigné comme un site d'étude pour le développement de recherches cliniques. Quatre communes sont concernées par le SSDS à Moramanga : la commune urbaine, et 3 communes rurales (Ampasimpotsy, Ambohibary et Andasibe). Pour des raisons pratiques et financières, la commune d'Andasibe n'a pas encore été recensée. Afin d'avoir la situation démographique de la population au même point de départ (1/01/2014), en plus du recensement des *fokontany* non fait en 2013, une mise à jour de la population recensée avant 2014 a été réalisée.

## II. Objectifs

Le but principal du SSDS de Moramanga est de créer une plateforme démographique qui contribue aux différentes études et évaluations en santé pour l'Institut Pasteur de Madagascar. Les différents objectifs sont : 1) fournir des informations longitudinales précises et fiables sur la population des villages observés pour le calcul des taux d'incidence, de morbidité, ou de mortalité dans cette population ; 2) obtenir une base de sondage pour les études sur la population; 3) participer à l'amélioration des connaissances sur les habitudes des populations et sur leur état de santé ; 4) connaître la mobilité de la population en lien avec les agents pathogènes.

### III. Méthodes

La collecte de données sur la population se fait en deux phases, le recensement initial et le suivi. Le SSDS a débuté en 2010, mais pour diverses raisons, il y a eu des périodes d'interruptions. En 2012, il a redémarré avec une nouvelle méthode pour la collecte des données. Les agents enquêteurs saisissent en temps réel sur ordinateur les informations recueillies, les superviseurs compilent les données et le contrôleur les envoie quotidiennement aux responsables au niveau central. L'équipe d'étude de terrain était composée de 30 enquêteurs, 5 superviseurs et 1 contrôleur.

#### III.1. Le recensement initial

Outre les données habituelles recueillies durant le recensement initial (la composition des ménages, des notions socio-démographiques et culturelles, les conditions socio-économiques, les conditions d'hygiène et les habitudes alimentaires...), des données sur les facteurs de risque du paludisme ont été obtenues. Lorsqu'il est enregistré, chaque ménage ainsi que chaque individu se voient assigner un identifiant unique. L'identifiant assigné est permanent, c'est-à-dire, que l'individu garde le même numéro même s'il change de ménage au sein du SSDS. Une procédure de nettoyage informatisée a été mise en place et lancée de façon régulière afin de détecter les valeurs aberrantes et les données manquantes, en plus d'une contre-enquête de 5% des ménages recensés par *fokontany*.

La majorité des *fokontany* a été recensée en 2013, quelques *fokontany* restants ont été recensés en début d'année 2014.

#### III.2. Le suivi démographique

La collecte longitudinale de données se poursuit sous la forme de visites périodiques des ménages enregistrés. L'objectif est de noter tous les changements ou événements démographiques qui ont eu lieu depuis la visite précédente. Il peut s'agir de naissances ou d'autres issues de grossesses, de décès ou de migrations ayant eu lieu entre la dernière visite et la visite en cours. La mise à jour effectuée en 2014 était une version simplifiée du suivi démographique pour avoir les situations de la population au 1<sup>er</sup> janvier 2014. En même temps, les empreintes digitales ont été enregistrées (sans image stockée) pour tout individu recensé et retrouvé à domicile lors de ces passages. Cette mise à jour des données, le recueil des empreintes digitales et le recensement des nouveaux ménages et des nouveaux arrivants ont été réalisés de février à avril 2014 ; de mai 2014 à octobre 2014, tous les décès notifiés dans les 12 mois avant le recensement et ceux survenus pendant la période de mise à jour ont été soumis à un questionnaire d'autopsie verbale afin d'identifier les causes probables de décès. L'établissement des causes probables de décès était l'activité réalisée en 2015.

### IV. Résultats et discussions

Au total, de octobre 2012 à Avril 2014, 71 601 individus ont été recensés dans 16 792 ménages, et 17 983 (25,1%) empreintes digitales ont été recueillies. La population masculine est de 50,7%. Les enfants de moins de 5 ans constituent 14,7% de la population et les femmes de 15 à 49 ans sont de 23,8%.

Les ménages où ont été notifiés 523 décès ont accepté d'être soumis à un questionnaire d'autopsie verbale. Les trois principales causes probables de décès selon la classification internationale des maladies (CIM 10) sont :

Chez les enfants de moins de 15 ans :

- les affections dont l'origine se situe dans la période périnatale (32,9%)
- les maladies infectieuses et parasitaires (17,8%)
- les maladies endocriniennes, nutritionnelles et métaboliques (12,5%)

Chez les individus âgés de 15 ans et plus :

- les maladies de l'appareil circulatoire (33,2%)
- les maladies de l'appareil digestif (8,6%)
- les maladies infectieuses et parasitaires (7,5%)

## V. Impacts

Le SSDS de la population à Moramanga permet de fournir des données précises du fait de son exhaustivité. En plus du recensement, la documentation des causes de décès contribuera à long terme à améliorer la politique de santé publique non seulement pour le district de Moramanga mais aussi pour tout Madagascar.

## VI. Productions scientifiques

En cours

**TB-Clin-Divers**

Réponse immune de l'hôte associée aux facteurs bactériens de prédisposition à la dissémination de mycobactérium tuberculosis et à la diversité de la forme clinique de la tuberculose

Correspondant :

**Niaina RAKOTOSAMIMANANA**Email : [niaina@pasteur.mg](mailto:niaina@pasteur.mg)

Tél : +261 20 22 412 72

Date de rédaction

26/01/2016

Co-investigateurs IPM

- **Voahangy RASOLOFO**, unité des mycobactéries, [vrasolof@pasteur.mg](mailto:vrasolof@pasteur.mg)- **Paulo RANAIVOMANANA**, unité des mycobactéries, [rpaulo@pasteur.mg](mailto:rpaulo@pasteur.mg)

Co-investigateur hors IPM

- **Ludovic TAILLEUX**, unité génétique mycobactérienne (UGM), Institut Pasteur à Paris- **Brigitte GICQUEL**, UGM, Institut Pasteur à Paris

Date début : 15/10/2012

Date fin : 15/09/2016

Durée (mois) : 48

Financements :

**Grant Dedonder Clayton, Division International Institut Pasteur, IPM**Mots clés : ***M. tuberculosis*, tuberculose clinique, macrophages infectés, diversité, facteurs bactériens**

Lieux des travaux

Antananarivo

Budget total

15 457,90 €

**I. Contexte et justification**

La tuberculose (TB) atteint généralement les poumons. Mais au cours de l'infection, *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) peut disséminer dans l'organisme et atteindre d'autres organes conduisant ainsi à une TB extrapulmonaire (EPTB). La difficulté du diagnostic bactériologique de l'EPTB fait que celui-ci repose principalement sur des critères cliniques et paracliniques. Les délais entre le diagnostic et le début du traitement sont associés à une forte mortalité. L'EPTB est observée chez environ 20% des sujets immunocompétents et 50% des sujets immunodéprimés. Elle est la première cause de mortalité chez les sujets infectés par le VIH. Dans une étude sur des macrophages infectés par Mtb et des observations de patients atteints de TB, une corrélation entre la production des facteurs de l'angiogenèse et la vascularisation avec la dissémination des bactéries dans d'autres organes a été observée. Il a également été observé que la réponse du système immunitaire de l'hôte humain varie selon le génotype des souches de Mtb et pourrait influencer la présentation clinique de la TB. Une meilleure compréhension des facteurs bactériens sur la réponse immunitaire de l'hôte en relation avec les formes cliniques de Mtb permettrait de mieux comprendre les mécanismes de l'EPTB et de mettre au point des outils de diagnostic pour la prise en charge rapide des patients tuberculeux.

## II. Objectifs

L'objectif de cette étude est de rechercher des facteurs génétiques bactériens associés aux EPTB. Ces facteurs seront déduits des variations de la réponse immunitaire de macrophages de l'hôte infectés par des bactéries issues de diverses formes cliniques de TB.

## III. Méthodes

- Des souches EPTB issues de différents sites cliniques et des souches pulmonaires, appariées sur l'âge et le sexe des patients, avec le même spoligotype, ont été sélectionnées pour l'étude. Des cellules de lignées cellulaires THP1 différenciées en macrophages ont été infectées *in vitro* par les souches sélectionnées. La capacité microbicide des macrophages ainsi que les cytokines (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10, VEGF) secrétées de ces infections ont été dosées et comparées selon la nature des souches infectantes EPTB ou pulmonaires. Une mesure *in vivo*, dans le sang de patients TB de ces cytokines sera réalisée. Le génome complet des souches présentant des différences phénotypiques chez l'hôte seront séquencées afin de proposer et de détecter les régions pouvant être à l'origine de la dissémination du pathogène et l'apparition de l'EPTB.

## IV. Résultats (état d'avancement)

Dix souches cliniques EPTB et 10 souches PTB issus de patients de Madagascar, provenant de différents sites cliniques de l'hôte et avec les mêmes spoligotypes « East African Indian\_MDG » ont été sélectionnées et utilisées pour les infections cellulaires *in vitro*. Une première évaluation de la variabilité des cytokines *in vitro* a été réalisée par ELISA à partir des surnageant des macrophages dérivées de cellules THP1 infectées après infections à différents temps jusqu'à 120h et montrent des différences entre patients EPTB et PTB. Les données d'infections *in vitro* permettront d'avoir une estimation de la réponse cytokine indépendamment de la variabilité génétique de l'hôte qui sera recherchés chez dans le sang des patients. L'accord du comité d'éthique à Madagascar pour un amendement permettant le recrutement de patients tuberculeux avec diverses formes cliniques pour valider les observations *in vitro* a été obtenu et le recrutement de ces patients est en cours.

## V. Impacts

La mise en évidence des facteurs bactériens associés aux formes cliniques de la TB permettra d'améliorer la compréhension des mécanismes de dissémination du pathogène, l'identification de cibles thérapeutiques et la lutte contre la propagation de la maladie.

## VI. Mémoires

- Sadera RABARIOELINA. Comparaison de la réponse immune entre la tuberculose pulmonaire et extra pulmonaire à partir de macrophages humains infectés par Mycobacterium tuberculosis. Rapport de stage (26/01/2015 au 13/03/2015) de Master 1 – GBC de l'Université Claude Bernard – Lyon 1.
- Ysé Borella. Comparaison de la réponse immune entre la tuberculose pulmonaire et extra pulmonaire à partir de macrophages humains infectés par Mycobacterium tuberculosis. Rapport de stage (06/2015 au 08/2015) – INSERM, UPMC, FJI, RIIP.

TB-Genom		Analyse de séquences de génomes de souches cliniques <i>M. tuberculosis</i>	
Correspondant :	Email :	Date de rédaction	
<b>Niaina RAKOTOSAMIMANANA</b>	<a href="mailto:niaina@pasteur.mg">niaina@pasteur.mg</a>	04/02/2016	
	Tél : +261 20 22 412 72	Lieux des travaux	
Co-investigateurs IPM		Antananarivo	
- <b>Voahangy RASOLOFO</b> , unité des mycobactéries, <a href="mailto:vrasolof@pasteur.mg">vrasolof@pasteur.mg</a>			
Co-investigateur hors IPM			
- <b>Brigitte GICQUEL</b> , UGM, Institut Pasteur à Paris			
Date début : <b>01/01/2014</b>	Date fin : <b>01/01/2016</b>	Durée (mois) : <b>24</b>	
Financements :			
<b>IPM</b>			
Mots clés : <b><i>M. tuberculosis</i>, diversité, génomes, in silico, transferts horizontaux</b>			

## I. Contexte et justification

L'émergence de souches *M. tuberculosis* (Mtb) multirésistantes aux antibiotiques ainsi que l'association aux infections par le VIH aggravent l'ampleur de la tuberculose dans le monde. La diversité génétique des souches Mtb est associée à une évolution des bactéries avec leur hôte et une adaptation aux aléas de leur environnement. Les nouvelles technologies de séquençage en haut débit de génomes permettent aujourd'hui une étude plus approfondie de cette diversité génomique bactérienne et de son influence sur les phénotypes bactériens. Ce projet se propose d'étudier les séquences génomiques au niveau de régions transmises par transferts horizontaux (*Horizontally transferred regions*, HGT) afin d'y étudier les facteurs évolutifs de souches cliniques Mtb.

## II. Objectifs

Etudier le polymorphisme des régions potentiellement acquises par HGT et leur évolution dans des génomes de souches cliniques Mtb à Madagascar :

- Etude de la distribution des SNPs dans les génomes de souches et des phénotypes associés
- Etude de l'évolution des souches à partir de la pression de sélection sur différentes régions des génomes.

## III. Méthodes

1) Séquençage par *Next Generation Sequencing* du génome de souches cliniques Mtb pour lesquelles les informations cliniques et épidémiologiques sont connues ainsi que les génotypes spoligotyping, MIRU – VNTR et SNP-tagging.

2) Etude *in silico* de la plasticité des génomes des souches Mtb séquencés :

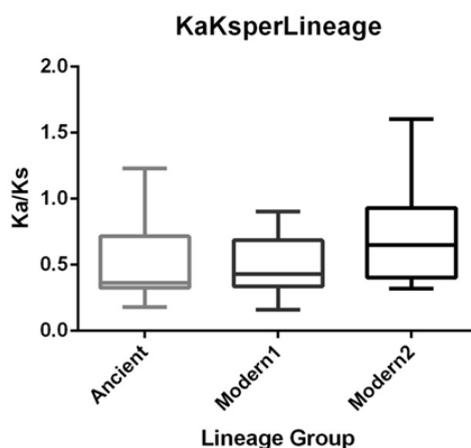
- Mapping des NGS, génération/filtrage des SNPs avec comme référence la souche H37Rv
- Utilisation d'outils statistiques avec un système d'équation d'estimation généralisée pour l'étude de la répartition des SNPs sur chacun des génomes et dans les régions HGT - Utilisation de KaKs\_Calculator pour le calcul du dN/dS ratio dans chaque génome et dans les régions HGT.

3) Etude *in silico* de génomes Mtb disponibles dans les bases de données biologiques en ligne :

- Obtention de génomes en ligne sur GenBank avec BioPython
  - Calcul du ratio dN/dS avec le logiciel gKaKs
- a. Calcul des ratios dN/dS par génome avec permutation du génome de référence
  - b. Calcul des ratios dN/dS par régions d'intérêt des génomes.

#### IV. Résultats et discussions

Ce projet fait suite à une étude précédente ayant montré un polymorphisme dans les régions HGT de 180 souches cliniques HGT de Madagascar (projet TB-HITS). L'assemblage et la comparaison des génomes de 9 souches cliniques obtenus par NGS avec la souche H37Rv ont montré que le nombre de SNP dans les régions HGT polymorphes était significativement plus élevé que celles non polymorphes en particulier dans les groupes génétiques de souches «moderne 1» et «moderne 2". En outre, l'accumulation de SNPs dans les régions HGT polymorphes semble être associée à une sélection négative purificatrice. Ks-Ka diminuée de -0,0003874 (IC95% : -0,0006380, -0,0001368 ; p=0,002). Aucune différence significative de la valeur moyenne du Ks-Ka n'a été observée entre les groupes des neuf souches.



**Figure : Ratio Ka/Ks issus des SNPs dans les génomes de souches cliniques Mtb par comparaison à une souche de référence H37Rv selon la lignée génétique évolutive des souches.**

Des études en bio-informatique et en analyses génomiques à partir de banques de génomes en ligne ont été réalisées afin de voir la diversité observée sur un nombre plus important de génomes de BK. Les données sont en cours d'analyses.

**TB-KIDS**

Evaluation des nouvelles méthodes de diagnostic de la tuberculose intrathoracique de l'enfant dans trois villes d'Afrique subsaharienne : Abidjan (Côte d'Ivoire), Yaoundé (Cameroun) et Antananarivo (Madagascar)

Correspondant :  
**Voahangy RASOLOFO**

Email : [vrasolof@pasteur.mg](mailto:vrasolof@pasteur.mg)  
Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction  
02/01/2016

Co-investigateur IPM

- **Dr Rindra RANDREMANANA**, unité d'épidémiologie, [rrindra@pasteur.mg](mailto:rrindra@pasteur.mg)

- **Dr Patrice PIOLA**, unité d'épidémiologie, [ppiola@pasteur.mg](mailto:ppiola@pasteur.mg)

- **Dr Aina HARIMANANA**, Cellule de Réalisation de Projet (CRP), unité d'épidémiologie, [aina@pasteur.mg](mailto:aina@pasteur.mg)

- **Dr Andrianantenaina RAKOTOSON**, Centre National de Référence des Mycobactéries, [ndrian@pasteur.mg](mailto:ndrian@pasteur.mg)

Co-investigateur hors IPM

- **Dr Kathleen VICTOIR**, coordinateur Institut Pasteur-Division International

- **Pr Brigitte GICQUEL**, unité de génétique mycobactérienne, Institut Pasteur à Paris (coordinateur scientifique)

- **Dr Sara EYANGO**, **Dr Mathurin TEJIOKEM** (CPC)

- **Pr Raymond KOUASSI N'GUESSAN** (IPCI)

Collaborateurs à Madagascar

- **Pr Annick Lalaina ROBINSON**, Centre Hospitalo-Universitaire Mère enfant de Tsaralàlana (CHUMET), Antananarivo

- **Dr Mbola RAKOTOMAHEFA**, **Pr Honoré RAOBIJAONA**, Service de Pédiatrie de l'Hôpital Universitaire Joseph Raseta de Befelatanana (HUIRB), Antananarivo

- **Programme National de Lutte contre la Tuberculose** (PNLT), Ministère de la Santé Publique, Madagascar

Date début : **Juin 2014**

Date fin : **Déc 2017**

Durée (mois) : **36**

Financements :

**Fondation TOTAL**

Mots clés : **Tuberculose pédiatrique, diagnostic, algorithmes, GeneXpert**

Lieux des travaux  
IPM, Antananarivo,  
Madagascar

Budget total  
€522.480  
(dont €182.506 pour  
IPM)

## I. Contexte et justification

La tuberculose (TB) est une des principales maladies responsable de décès tant chez les adultes que chez les enfants dans le monde. Les enfants peuvent généralement être contaminés par le bacille tuberculeux quand ils sont exposés à un patient tuberculeux pulmonaire à microscopie positive. Les enfants de moins de 5 ans ont un risque plus élevé de développer la maladie même chez les sujets immunocompétents à cause de leur système immunitaire moins développé, mais plus encore chez les sujets immunodéprimés et/ou infectés par le VIH.

L'évaluation du fardeau que représente la TB chez l'enfant est difficile à établir pour de nombreuses raisons : la difficulté du diagnostic définitif, la présence fréquente d'une TB extrapulmonaire alors que la priorité en santé publique est le dépistage des patients à frottis positifs, et les liens insuffisants entre les pédiatres et les programmes nationaux contre la TB. L'incidence des cas de TB diagnostiqués chez l'enfant est variable selon les pays, dépendant de la prévalence de la maladie, de la structure par âge de la population mais aussi des outils de diagnostic disponibles.

Les nouvelles technologies de diagnostic telles que GeneXpert et les méthodes alternatives de recueil d'échantillons bactériologiques sont des alternatives intéressantes à la culture de *M. tuberculosis* qui est longue et fastidieuse et aux aspirations gastriques, examens invasifs et nécessitant le plus souvent une hospitalisation.

## II. Objectifs

L'objectif est d'identifier des algorithmes optimaux pour le diagnostic de la TB intrathoracique chez l'enfant en fonction de différents environnements et différents niveaux de ressources de prise en charge.

Plus spécifiquement, il s'agit de :

- Evaluer le nouvel outil diagnostique Xpert MTB/RIF et les méthodes alternatives de prélèvement bactériologiques (aspiration nasopharyngée, selles) pour le diagnostic de la TB intrathoracique pédiatrique.
- Identifier les déterminants des faux positifs et des faux négatifs pour chaque outil diagnostique.
- Evaluer la performance du score pédiatrique utilisé par les pédiatres au niveau ou applicable.

## III. Méthodes

Il s'agit d'une étude prospective menée dans les hôpitaux pédiatriques des capitales des trois pays impliqués. Après une évaluation initiale clinique, les cliniciens poseront un diagnostic en utilisant les algorithmes nationaux pour la TB (diagnostic du clinicien). Les enfants identifiés avec une TB intrathoracique seront traités selon les recommandations nationales.

Environ 1500 enfants cliniquement suspects de TB intrathoracique devront être dépistés pour obtenir 420 enfants tuberculeux sur les 3 pays pendant la durée de l'étude qui est de 3 ans.

Au cours de ce dépistage, un examen clinique complet et des examens biologiques seront faits. Des échantillons cliniques seront recueillis par les méthodes conventionnelles (crachat, tubage gastrique) et par des méthodes alternatives (string test, aspiration nasopharyngée, selles). Les analyses bactériologiques pour le diagnostic de la TB seront effectuées par la microscopie, la culture et le test Xpert MTB/RIF.

Chaque enfant ayant répondu aux critères d'inclusion sera classé en tuberculose confirmée, probable, possible, improbable ou non tuberculeux.

La performance des nouveaux outils diagnostiques et des méthodes alternatives de prélèvement bactériologique sera évaluée en décrivant leur sensibilité et spécificité respectives.

L'élaboration d'algorithmes se fera en tenant compte du coût de chaque test, de leur sensibilité et de leur spécificité respectives, et des capacités des laboratoires disponibles.

#### IV. Etat d'avancement

La réunion de lancement du projet a eu lieu à l'Institut Pasteur de Madagascar les 18 et 19 novembre 2014 avec la participation des représentants des Instituts Pasteur à Paris, Côte d'Ivoire, Madagascar, du Centre Pasteur du Cameroun, des représentants des hôpitaux à Antananarivo.

En 2015, les autorisations au niveau du PIRC/CoRC (Institut Pasteur) et des comités nationaux d'éthique respectifs des trois pays ont été obtenues. La Cellule de Réalisation de Projet (CRP) de l'IPM a développé les procédures qui ont été partagées avec les autres sites. Les formations au niveau des sites cliniques à Antananarivo sont en cours et l'inclusion des patients débutera en 2016.

#### V. Impacts

- Développement d'algorithmes optimaux pour le diagnostic de la TB chez l'enfant.
- Renforcement des capacités de diagnostic de la TB chez les enfants et mise en place des méthodes de diagnostic rapides dans les différents pays impliqués.

**TB-LaTAS**

Tuberculose latente à Tunis (Tunisie), Antananarivo (Madagascar) et Saint-Louis (Sénégal). Etude pilote.

Correspondant :  
**Voahangy RASOLOFO**Email : [vrasolof@pasteur.mg](mailto:vrasolof@pasteur.mg)

Tél : +261 20 22 412 72

Date de rédaction

02/01/2016

Co-investigateur IPM

Lieux des travaux

Antananarivo,  
Madagascar- **Paulo RANAIVOMANANA**, unité des mycobactéries, [rpaulo@pasteur.mg](mailto:rpaulo@pasteur.mg)- **Andrianantenaina RAKOTOSON**, Centre National de Référence des Mycobactéries, [ndrian@pasteur.mg](mailto:ndrian@pasteur.mg)

Budget total

€ 62 000

- **Rindra RANDREMANANA**, unité d'épidémiologie, [rrindra@pasteur.mg](mailto:rrindra@pasteur.mg)

dont € 24 300 pour IPM

Co-investigateur hors IPM

- **Nathalie MIELCAREK** (coordonnateur du projet), Institut Pasteur de Lille (IPL), France- **Camille LOCHT** (responsable scientifique), IPL- **Ridha BARBOUCHE** (responsable scientifique), Institut Pasteur de Tunis (IPT), Tunisie- **Gilles RIVEAU et coll.**, Espoir Pour La Santé (EPLS), Saint-Louis, Sénégal- **Chaouki BENABDESSALEM**, Institut Pasteur de Tunis (IPT), Tunisie- **Françoise MASCART**, Université Libre de Bruxelles- **Julio RAKOTONIRINA et coll.**, Etablissement Universitaire de Soins et de Santé Publique d'Analakely (EUSSPA), Antananarivo, MadagascarDate début : **Sept. 2013**Date fin : **Août 2015**Durée (mois) : **24**

Financements :

**ACIP (DI)**Mots clés : **Tuberculose latente, antigène HBHA, IFN- $\gamma$ , IGRA**

## I. Contexte et justification

La tuberculose (TB) est une maladie infectieuse causée par la bactérie *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). Seulement 5 à 10% des personnes infectées développent une forme active de la maladie. Dans plus de 90 % des cas, la multiplication de *M. tuberculosis* est contrôlée par le sujet infecté. Le sujet n'est pas malade mais il maintient une infection dite « latente ».

L'antigène HBHA (« Heparin bindin haemagglutinin ») est une protéine méthylée de 28kDa exprimée à la surface de la plupart des mycobactéries. L'HBHA, un des nouveaux candidats vaccins, stimule l'immunité à médiation cellulaire humaine avec, toutefois, des différences selon que le sujet infecté souffre ou non de TB active. Ainsi, les lymphocytes T des sujets latents (infectés mais non-malades), suite à la stimulation *in-vitro* avec la HBHA produisent de l'IFN- $\gamma$ . En comparaison, les cellules mononuclées (PBMC) de

personnes ayant une TB active secrètent de faibles quantités d'IFN- $\gamma$ . Ces résultats ont permis la mise au point d'un test de détection de TB latente appelé HBHA-IGRA ("HBHA-Interferon gamma release assay") par l'Institut Pasteur de Lille (équipe du Dr Camille Loch) et l'Université libre de Bruxelles (équipe du Professeur Françoise Mascarot).

## II. Objectifs

L'objectif de ce projet est d'obtenir des premières données sur la prévalence de TB latente chez les populations Malgache, Tunisienne et Sénégalaise. Pour cela, la réponse immune à médiation cellulaire induite par HBHA est mesurée par le test HBHA-IGRA.

## III. Méthodes

La réponse HBHA-IGRA a été étudiée et comparée à celle induite par un autre antigène immuno-dominant, l'ESAT-6 dans 3 populations africaines distinctes géographiquement (Madagascar, Tunisie et Sénégal) et en termes d'endémicité. Trois groupes de sujets ont été inclus :

- sujets ayant une TB active (arguments cliniques et bactériologiques)
- sujets sains ayant été en contact avec des personnes avec une TB active (test tuberculinique positif, pas de signe clinique de TB)
- sujets contrôles sains présentant un test tuberculinique négatif.

Le recrutement des patients à TB active (TBA) a été effectué au dispensaire anti-tuberculeux d'Antananarivo (DAT). Les sujets contacts ont été recrutés soit à leurs domiciles respectifs soit au DAT, et les sujets contrôles sains au dispensaire de l'IPM. . Pour les patients TBA et les sujets contacts, 2 crachats ont été prélevés pour le diagnostic de la TB par la microscopie et par la culture. Pour chaque individu, un échantillon de sang a été prélevé et acheminé au laboratoire de l'IPM. Le test HBHA-IGRA a été effectué sur les PBMC (cellules mononucléées du sang périphérique) isolées à partir du sang total.

Les données cliniques et les résultats ont été saisis dans une base de données Access.

## IV. Résultats et état d'avancement

Le projet a obtenu l'autorisation du CoRC (Institut Pasteur, Paris) en mai 2014 et celle du comité d'éthique à Madagascar en novembre 2014.

Du 14 octobre 2015 au 31 décembre 2015, 60 sujets ont rempli les critères d'inclusion dont 21 TBA, 34 sujets contacts et 5 contrôles sains. Parmi les sujets inclus, 6 TBA et 4 contacts n'ont pas eu la quantité de PBMC requise ( $2 \times 10^6$  cellules/ml) pour l'HBHA-IGRA et ont donc été exclus. Le reste (50 échantillons) a pu être testé par HBHA-IGRA.

## V. Perspectives

L'analyse des résultats (données immunologiques, données bactériologiques et données cliniques) se fera par site puis, les données des 3 pays seront rassemblées pour une analyse multicentrique.

## VI. Impacts

Cette étude pilote nous permettra de déterminer si les résultats obtenus en Europe avec le test HBHA-IGRA sont transposables aux différentes régions africaines partenaires de ce projet. Par ailleurs, les données acquises permettront de connaître le niveau basal de la réponse cellulaire à l'HBHA, donnée indispensable au suivi de l'efficacité de la vaccination par l'HBHA lors de futurs essais cliniques.

**TB-SLIDE****Distribution spatiale des géotypes des souches cliniques mycobacterium tuberculosis à Antananarivo. Etude pilote**

Correspondant :  
**Voahangy RASOLOFO**

Email : [vrasolof@pasteur.mg](mailto:vrasolof@pasteur.mg)  
Tél : +261 20 22 412 72

Date de rédaction  
27/01/2016

Co-investigateur IPM

- **Noël H. RATOSONIRINA**, unité des mycobactéries, [harijaona@pasteur.mg](mailto:harijaona@pasteur.mg)
- **Fanjaso RAKOTOMANANA**, unité d'épidémiologie, [fanja@pasteur.mg](mailto:fanja@pasteur.mg)
- **Niaina RAKOTOSAMIMANANA**, unité des mycobactéries, [niaina@pasteur.mg](mailto:niaina@pasteur.mg)
- **Solohery Lalaina RAZAFIMAHATRATRA**, unité mycobactéries, [solohery@pasteur.mg](mailto:solohery@pasteur.mg)

Lieux des travaux  
Antananarivo,  
Madagascar, France

Budget total  
€ 7 295 de bourse  
€ 7 500 PI

Co-investigateur hors IPM

- **Christophe SOLA, Guislaine REFREGIER**, Institut de Génétique et Microbiologie UMR8621, Université Paris-Sud, Orsay, France

Date début : **1/07/2012**      Date fin : **31/08/2015**      Durée (mois) : **36**

Financements :

**Bourse du Gouvernement Français ; Financement Projet interne IPM**

Mots clés : ***M. tuberculosis*, lames bacilloscopie, géotypage, SIG, clusters**

## I. Contexte et justification

La tuberculose (TB) est un problème majeur de santé publique dans le monde. A Madagascar, la prévalence de la TB est estimée à 413/100 000 habitants (OMS).

Une grande variété de souches *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) à Madagascar, appartenant à différents groupes génétiques a été décrite. Le géotypage est en général réalisé à partir de l'ADN extrait de souches en culture. Or, la culture de *Mtb*, de même que le diagnostic des résistances, réalisés à partir des crachats, sont longs et fastidieux. De plus, pour la surveillance des résistances et pour les études d'épidémiologie moléculaire, ces crachats (matériels biologiques infectieux et difficiles à conserver) doivent être transportés des centres de santé vers l'IPM où sont effectués les tests, ce qui pose des problèmes de conservation et de sécurité. La possibilité de réaliser les tests moléculaires à partir de frottis sur lames utilisées pour le diagnostic microscopique (matériel non infectieux) de la TB peut être une alternative et offre la perspective de réaliser d'une part, la détection des résistances et d'autre part, le géotypage des souches pour les patients TB des centres éloignés d'Antananarivo, permettant ainsi des études épidémiologiques ou de résistance à grande échelle.

Par ailleurs, le Système d'Information Géographique (SIG) permet la localisation et la cartographie des foyers d'agrégation spatio-temporelle de maladies. Des études menées par l'unité d'épidémiologie ont montré la présence de clusters spatiaux de cas de TB à Antananarivo suggérant une transmission plus ou moins importante des bacilles. Un regroupement spatial a été observé dans 3 des 6 arrondissements de la ville (192 quartiers) en 2004 ; puis une diminution de la taille du regroupement et un déplacement du site de regroupement vers les quartiers du sud ont été observés en 2005.

Une association de ces deux approches peut avoir un fort potentiel pour l'épidémiologie-surveillance rapide et accessible de la Tb à Madagascar.

## II. Objectifs

L'objectif de ce projet est de d'associer SIG et génotypage pour la détermination de hot spots de transmission des *Mtb* à Antananarivo.

- Démontrer la faisabilité des techniques de typage moléculaire (spoligotyping) à partir des lames de diagnostic microscopique, récoltées dans les centres de diagnostic d'Antananarivo
- Etudier la diversité génétique des souches circulant à Antananarivo et de rechercher les clusters génotypiques de souches ;
- Décrire les zones d'agglomération de cas de Tb à Antananarivo par fusion de résultats d'études ultérieures.
- Analyser la distribution des souches de même génotypes et des spoligotypes dominants de part et d'autre du cluster spatial de cas de Tb pour déterminer si ces derniers sont des hot spots de transmission de souches de BK.

## III. Méthodes

Il s'agit d'une étude prospective avec environ 500 cas de TB pulmonaire à microscopie positive (TPM+) de 20 centres de diagnostic de la tuberculose (CDT) d'Antananarivo pendant 8 mois. Après information des patients et obtention de leur consentement, une fiche d'information a été remplie. Les lames utilisées pour le diagnostic bacilloscopique et les crachats ont été envoyés à l'IPM pour les analyses.

L'ADN, extrait à partir des lames, a été utilisé pour le spoligotyping.. Un cluster génotypique a été défini comme un groupe de souches présentant le même spoligotype.

D'autre part, des souches *Mtb* ont été isolées et identifiées après mise en culture des crachats sur milieu de Löwenstein-Jensen (LJ). et ont été typées par spoligotyping sur la plateforme Luminex®. Les spoligotypes obtenus comparés à ceux obtenus à partir des ADN extraits des lames.

Les patients TB ont été localisés par « Fokontany » selon les informations sur les fiches d'enquêtes et l'étude des clusters spatiaux de cas de tuberculose a été faite avec le logiciel SatScan® et QuantumGis®. Les clusters spatiaux de cas de Tb publiés auparavant ont été fusionnés pour décrire les zones de forte agglomération de Tb à Antananarivo. Ensuite la distribution des souches ayant les mêmes génotypes ainsi que les spoligotypes dominants de part et d'autre du cluster spatial de cas de Tb défini ont été analysé pour déterminer si ce cluster spatial constitue un hotspot de transmission de souche de BK ou non.

## IV. Résultats

Cinq cent vingt-trois patients TPM+ ont été recrutés, dont 467 patients répondant aux critères de sélection après vérification ont été inclus. 394 spoligotypes ont été obtenus à partir d'ADN extrait de colonies de la culture sur milieu de LJ et 421 spoligotypes obtenus à partir d'ADN extrait des lames. Sur 333 échantillons pour lesquels les spoligotypes ont pu être réalisés à partir d'ADN obtenu par les 2 méthodes d'extraction, 141 (56,17 %) ont eu des profils concordants. Ce faible taux de concordance nous a amenés à réaliser l'analyse de distribution spatiale avec les génotypes obtenus à partir de colonies de culture.

La distribution des génotypes à Antananarivo montre la prédominance des souches de la lignée T (43,15%) et des souches EAI (12,69%).

Les analyses spatiales ont montré quatre cluster spatiaux de souches *Mtb* avec des spoligotypes de profils

répétés qui pourraient être associés à une transmission récente de TB ( $0.001 < p < 0.043$ ) dans 13 des 192 Fokontany d'Antananarivo.

## V. Conclusion

La combinaison de typage bactérien et d'analyses spatiales semble mettre en exergue des zones pouvant être associées à une transmission active de la TB à Antananarivo. La méthodologie de génotypage à partir des lames de diagnostic microscopique de la TB nécessite encore une optimisation pour être validée.

## VI. Impacts

- Possibilité de réaliser des études épidémiologiques et de surveillance des cas de tuberculose à grande échelle avec les lames faites pour le diagnostic microscopique.
- Mise à disposition d'un outil permettant de déterminer les zones de forte transmission de TB pour le PNLT.

## VII. Production scientifique

### VII.1. Communications orales ou affichées en 2015

- **Ratvonirina NH.** Spatial distribution of *Mycobacterium tuberculosis* clinical strain genotypes in Antananarivo: a pilot study. Journée des Doctorants, IPM, 2015.

**Viro-ZORA****Zoonoses, rongeurs et arboviroses à Madagascar**

Correspondant :

**Marie-Marie OLIVE**Email : [mmolive@pasteur.mg](mailto:mmolive@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72****Date de rédaction**

25/03/2016

**Lieux des travaux**

28 sites sentinelles de surveillance des fièvres

**Budget total**

50 000 €

Co-investigateur IPM

- **Jean-Michel HERAUD**, unité de virologie, [jmheraud@pasteur.mg](mailto:jmheraud@pasteur.mg)- **Soa Fy ANDRIAMANDIMBY**, unité de virologie, [soafy@pasteur.mg](mailto:soafy@pasteur.mg)- **Minoarisoa RAJERISON**, unité peste, [mino@pasteur.mg](mailto:mino@pasteur.mg)- **Sandra TELFER**, unité peste, [stelfer@pasteur.mg](mailto:stelfer@pasteur.mg)- **Soanandrasana RAHELINIRINA**, unité peste, [raheli@pasteur.mg](mailto:raheli@pasteur.mg)- **Fanjasoa RAKOTOMANANA**, unité d'épidémiologie, [fanja@pasteur.mg](mailto:fanja@pasteur.mg)- **Sedera ANDRIMASINORO**, unité d'épidémiologie, [ansedera@pasteur.mg](mailto:ansedera@pasteur.mg)Date début : **2011**Date fin : **2016**Durée (mois) : **24**

Financements :

**Wellcome Trust (Fellowship 2011-2016); University of Florida; CDC (CoAg Grippe)**Mots clés : **Zoonoses, arboviroses, rongeurs, Madagascar**

## I. Contexte et justification

De nombreuses maladies émergentes ou réémergentes ont une origine zoonotique et constituent une préoccupation de santé publique (Influenza aviaires, Fièvre de la Vallée du Rift, Peste, Leptospirose, Encéphalite japonaise, hantavirus...). Les arbovirus ont une origine zoonotique et certains d'entre eux ont la capacité d'infecter l'homme. En dehors de la peste, dont des épidémies sont déclarées régulièrement, les autres pathogènes zoonotiques associés aux petits mammifères terrestres sont peu connus à Madagascar. Des données actualisées sur la circulation des arboviroses et des zoonoses dans les différentes régions de Madagascar font donc défaut. Dans cette optique, le projet ZORA impliquant les unités de virologie, de la peste et d'épidémiologie a été initié. Ce projet vise à déterminer l'importance de la circulation des arboviroses, de la peste, de la leptospirose dans la population de l'île, et des hantavirus chez les rongeurs vivant en milieu péri-domestiques. Des prélèvements et enquêtes chez l'homme ainsi que des captures et prélèvements de rongeurs ont été effectués autour de 28 des 31 sites de surveillance sentinelle des fièvres à Madagascar.

## II. Objectifs

Comprendre l'épidémiologie de certains agents pathogènes tels que des arbovirus, les virus de la grippe, les hantavirus, *Yersinia pestis* et les leptospires dans la population de Madagascar

### III. Méthodes

#### III.1. Zones d'étude

Les recrutements ont été réalisés dans les districts de 28 sites sentinelles de surveillance des fièvres (voir fiche Surveillance sentinelle des fièvres). Deux sites ont été sélectionnés aléatoirement dans chacune des zones : un site en milieu urbain et un site en milieu rural. Dans chacun des sites urbains et ruraux 30 personnes ont été recrutées (tirage au sort des ménages) pour participer volontairement à l'étude.

#### III.2. Ethique

Cette étude a reçu une autorisation du comité d'éthique national (Autorisation n° 066 - MSANP/CE du 26 juillet 2011).

#### III.3. Capture et prélèvements de rongeurs

Ces données sont présentées dans la fiche programme ZORA-PRIZM.

### IV. Résultats et discussions

Fièvre de la Vallée du Rift : voir Fiche **FVR-ZORA**

Hantavirus : voir Fiche **Hanta-MADOI**

Peste et Leptospirose : voir Fiche **ZORA-PRIZM**

Pour les autres arboviroses (Dengue, Chikungunya et WestNile) et la Grippe, les analyses sont en cours.

### V. Impacts

Une cartographie de la répartition des différents pathogènes recherchés chez l'homme et les petits mammifères terrestres, dans les différents écosystèmes de Madagascar pourra être réalisée. Ceci permettra, entre autres, de cibler les prochaines études de surveillances et de recherches sur ces pathogènes. Enfin, une étude sur les facteurs de risques associés à l'infection par ces pathogènes chez l'homme sera menée.

# Activités de formation



Formation

# Etudiants, Stagiaires & scientifiques accueillis

## I. Thèses de sciences

### I.1. Unité de Bactériologie Expérimentale

1. Andrianoelina Herilalaina Volaso, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO, FACULTE DES SCIENCES (Madagascar)]. Dynamique de transmission des bactéries multi-résistantes (BMR) aux antibiotiques en néonatalogie, hôpital CENHOSOA Antananarivo.
2. Andrianiaina Rakotondrasoa, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO, FACULTE DES SCIENCES (Madagascar)]. Etude et caractérisation de souches de *Klebsiella pneumoniae* multirésistantes et hypervirulentes en portage humain.
3. Rivolala Lalaina Odile, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO, FACULTE DES SCIENCES (Madagascar)]. Tests de diagnostic rapides d'espèces bactériennes et de résistances aux antibiotiques par la technique LAMP.

### I.2. Unité d'Entomologie Médicale

1. Miaranjara Adélaïde, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Biologie et Génétique des Puces de Madagascar.
2. Randriamaherijaona Sanjarizaha, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Adaptation du vecteur du Paludisme aux différentes méthodes de lutte mises en place à Madagascar : résistance, distribution.
3. Jean José Népomichène Thiery Nirina, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Biologie de *Anopheles coustani* et son implication dans la transmission du Virus de la Fièvre de la Vallée du Rift et du Plasmodium.

### I.3. Unité d'Epidémiologie

1. Andrianasolo Andry Herisoa, [UNIVERSITE DE BOURGOGNE (Madagascar)]. Déterminants épidémiologique et socio-anthropologique du poids, de la prise en charge et de la prévention du paludisme et des infections respiratoires basses (tuberculose, grippe, pneumocoques) à Madagascar.
2. Chiarella Mattern, [UNIVERSITE DE LOUVAIN (Belgique)]. Les spécificités du marché informel du médicament pharmaceutique industriel à Madagascar, organisation et fonctionnement : du formel à l'informel.
3. Ihantamalala Hanitriniaina Felana Angella [UNIVERSITE DE LA REUNION (Madagascar)]. Modélisation des zones variables à la propagation du paludisme en rapport à la mobilité de la population à Madagascar.
4. Raharijaona Hanta Marie Emma, [UNIVERSITE CATHOLIQUE DE MADAGASCAR (Madagascar)]. Déterminants de l'accès aux luttes préventives et thérapeutiques face au paludisme, à la peste et à l'exposition à la rage.
5. Florian Girond [UNIVERSITE DE LA REUNION]. Mise en place d'un système de détection précoce et de prédiction du risque épidémique de paludisme à Madagascar.

6. Marilys Victoire Razakamanana [ECOLE D'ECONOMIE DE L'UNIVERSITE D'AUVERGNE-CERDI]. Effets économiques du paludisme et de la pneumonie à Madagascar : analyses micro et macroéconomiques.
7. Perlinot Herindrainy, [UNIVERSITE PARIS SACLAY (France)]. Epidémiologie et transmission mère-enfant des bactéries multi-résistantes à Madagascar.
8. Rila Ratovoson, [UNIVERSITE PIERRE MARIE CURIE (Paris VI)], Démographie, mortalité et cause de décès dans le district de Moramanga, zone pilote de Madagascar.

#### I.4. Unité d'Immunologie des Maladies Infectieuses

1. Andriamanantena Zo Tsiferana Juliana, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Etude des réponses immunes muco-sales et systémiques chez les enfants souffrant de malnutrition et du syndrome d'Entéropathie Environnementale Pédiatrique (EEP)
2. Chakir Ismaël, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Comores)]. Etude de la réponse anticorps des sujets faisant un primo-accès palustre et ses applications pour le développement d'un test de détection des séroconversions.
3. Goupeyou Youmsi Jessy Marlène, [UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE, PARIS 6 (France)]. *Plasmodium vivax*: spécificité d'interactions avec ses vecteurs majeurs a Madagascar et le rôle de l'antigène Duffy dans l'infectivité des *Anophèles*.
4. Ramandanirainy Prisca Annick, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Exploration de la réponse immunitaire cellulaire au cours de la cysticercose humaine.

#### I.5. Unité des Mycobactéries

1. Lucia Rondroarivelo Rasoahanitralisoa [Université d'Antananarivo (Madagascar)]. Etude de polymorphisme des gènes acquis par transfert horizontal chez les souches du complexe *Mycobacterium tuberculosis* et recherche de nouvelle cible candidate à l'élaboration de nouvelles générations de médicaments.
2. Marie Sylvianne Rabodoarivelo [Université d'Antananarivo (Madagascar)]. Détection moléculaire de la résistance de *M. tuberculosis* aux antituberculeux à partir de lames colorées et d'échantillons conservés sur papier filtre à Madagascar.
3. Noël Harijaona Ratovonirina [Université d'Antananarivo (Madagascar)]. Génotypage et tests moléculaires de résistance de *M.tuberculosis* aux antibiotiques
4. Paulo Ranaivomanana [Université d'Antananarivo (Madagascar)] Développement des capacités pour la mise en place d'un site clinique pour des essais vaccinaux en tuberculose.

#### I.6. Unité Paludisme

1. Voahangy Andrianaranjaka, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Impact de la pression médicamenteuse liée à la politique de traitement antipaludique sur la population de *plasmodium falciparum* à Madagascar.

2. Thomas Kesteman, [UNIVERSITE AIX-MARSEILLE (Belgique)]. Evaluation du poids du paludisme dans une situation de transition épidémiologique, à Madagascar, et de l'efficacité en conditions réelles (effectiveness) des mesures de lutte déployées dans le cadre du programme national de lutte.

### I.7. Unité de Virologie

1. Marie Marie Olive, [UNIVERSITE DE MONTPELLIER (France)]. Mécanismes de transmission du virus de la Fièvre de la Vallée du Rift à Madagascar. Thèse en cotutelle CIRAD
2. Soa Fy Andriamandimby, [UNIVERSITE DE VERSAILLES SAINT-QUENTIN-EN-YVELINES (France)]. Epidémiologie des virus des hépatites à Madagascar.
3. Raharinosy Vololoniaina, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Ecologie et évolution génétique des Hantavirus à Madagascar.
4. Ranaivoson Hafaliana Christian, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Ecologie de réservoir pathogène chez les chiroptères de Madagascar.
5. Cara Brook, [UNIVERSITE DE PRINCETON (USA)]

## II. Thèses d'exercice (médecine, pharmacie, vétérinaire)

### II.1. Unité Paludisme

1. Heritiana Fanomezantsoa Andriamahefa, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Détection de *Trypanosoma sp* chez les batraciens. Soutenue en Novembre 2015

### II.2. Unité de Virologie

1. Rabarison Joelinotahina Hasina, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Profil épidémiologique et génotypique des hépatites virales B et C parmi les hépatopathies chroniques au sein du CHU-JRB
2. Rakotoarinoro Mihajamanana, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Situation post-épizootique (2009-2014) de la Fièvre de la Vallée du Rift des bovins à Madagascar.
3. Keithly Mensah [FACULTE DE MEDECINE
4. Rasolonjatovo Felana Suzah, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Evaluation d'une méthode de diagnostic de la rage à partir de papiers FTA.

## III. Master 2, Master pro, DEA & équivalent

### III.1. Unité de Bactériologie Expérimentale

1. Rabenandrasana Mamitiana Alain Noah, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO, FACULTE DES SCIENCES (Madagascar)]. Mastère 2. Titre du mémoire : Caractérisation phénotypique et génotypique d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération isolées dans un service de néonatalogie.

2. Andriamahery Felamboahangy, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO, FACULTE DES SCIENCES (Madagascar)]. Mastère 2. Titre du mémoire : Détection d'*Escherichia coli* et de gènes de résistance *ctx-M* du groupe 1 par la technique LAMP.

### III.2. Unité d'Entomologie Médicale

1. Andriamanaosoa Tojonanahary Jacquard, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Etude de la Bio-efficacité et rémanance du Chlorfénapyr à Madagascar. Etude dans les cases-pièges.
2. Tanjona Rakotoniaina Mihajarimalala, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Etude des déterminants de la transmission résiduelle du paludisme dans le district de Marovoay.
3. Andriamasinoro Narindra, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Etude de l'infection de *Anopheles arabiensis* par *Plasmodium falciparum* et sa détection par MALDI-TOF MS.

### I.1. Unité d'Epidémiologie

1. Rakotoarison Valisoa Claude, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Mise en oeuvre et évaluation d'une campagne de communication sur la cysticerose et la teniase à *Taenia solium* dans le district d'Arivonimamo.
2. Rasoloarijaona Randza Vololona, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Les pratiques alimentaires des enfants de 6 à 59 mois à Moramanga, consommation et couverture des besoins nutritionnels.
3. Andriamahefasoa Kolitiana Navalona, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Déterminants du statut en iode à Madagascar.
4. Rakotomalala Robinson Dimbintsoa, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Déterminants de l'hypertension artérielle chez les femmes en âge de procréer à Madagascar.
5. Marielle Jousse, [ISPED, Bordeaux 2]. Les complications sévères des avortements à Madagascar.
6. Céline Kaae Laforet, [UNIVERSITY OF COPENHAGUE]. Evaluation of ultrasonography for diagnosis of *Taenia solium* cysticercosis in pigs in Madagascar.
7. Amélie Dureault, [PASTEUR CNAM]. Développement d'un outil d'aide au diagnostic associé à un kit POC dans le cadre de la prise en charge des patients consultants pour accès fébrile dans un centre de santé de base à Moramanga : étude pilote.

### III.3. Unité d'Immunologie des Maladies Infectieuses

1. Davidson Oria Andrianina, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Développement d'un test moléculaire LAMP de type point-of-care pour le diagnostic de la neurocysticerose.
2. Kaae Laforet Céline, [UNIVERSITE DE COPENHAGUE, (Danemark)]. Evaluation de l'échographie pour le diagnostic de la cysticerose à *Taenia solium* chez les porcs à Madagascar
3. Ramboarina Stéphanie, [CONSERVATOIRE NATIONAL DES ARTS ET METIERS (France)]. Investigation de la plasticité de *Plasmodium vivax* dans la population malgache.

4. Randriambolaina Gerry Jonathan, [UNIVERSITE DE SAINT-DENIS, LA REUNION (France)]. Prévalence des infections à *Plasmodium vivax* et de l'expression de l'antigène érythrocytaire Duffy à Maevatanana.

### III.4. Unité des Mycobactéries

1. Nandimby Sandratriniaina Andriatsalama [Université d'Antananarivo (Madagascar)]. Etude de la production de cytokines après infection de macrophages par *M. tuberculosis*.
2. Solohery Lalaina Razafimahatratra [Université d'Antananarivo (Madagascar)]. Distribution spatiale des génotypes des souches cliniques de *Mycobacterium tuberculosis* à Antananarivo.
3. Rina Andrianaivomikotroka [Université d'Antananarivo (Madagascar)]. Evaluation de test moléculaire de détection de la multirésistance de *Mycobacterium tuberculosis* à partir d'ADN extrait de crachats conservés sur des supports en papier filtre.

### III.5. Unité du Paludisme

1. Dina Ny Aina Liantsoa Ramiarinjatovo, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Détection et typage de *Plasmodium* ovale dans le moyen ouest de Madagascar.
2. Anjara Nomena Ny Zo Rabearivony, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Polymorphisme de *Plasmodium vivax* dans la partie ouest de Madagascar.
3. Mamy Arilandy RAKOTOMAMONJY, [UNIVERSITE DE MAHAJANGA (Madagascar)]. Etudes d'activités antiplasmodiales in vitro de quelques plantes utilisées dans la médecine traditionnelle malgache.

### III.6. Unité de Virologie

1. Frida Mirandolie Charles, [INSTITUT SUPERIEUR POLYTECHNIQUE DE MADAGASCAR]. Mise au point d'une technique moléculaire pour la détection de la résistance des virus grippaux de type A/H1N1pdm09 aux inhibiteurs de la neuraminidase.
2. Ramamonjharisoa Miora Bruna, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Isolement sur cellules des Entérovirus et caractérisation des poliovirus isolés d'enfants sains d'Analava.
3. Rabemananjara Harinirina Aina, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Mise au point de la technique Elisa pour l'étude de la séroprévalence dans la population malgache exposée aux Hantavirus.
4. Raharinantoanina Sandratana Vonjilalao Johnson, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Génotypage des entérovirus non poliomyélitiques isolés dans des selles des cas de PFA à Madagascar.

## II. Internat qualifiant

### II.1. Unité d'Epidémiologie

1. Ratsimbazafy Noro Seheny, [UNIVERSITE D'ANTANANARIVO (Madagascar)]. Stage d'observation (6 mois).

## IV. Autres stages

### IV.1. Centre de Biologie Clinique

1. Raveloson Sarah, [Ecole normale supérieure, Université d'Antananarivo]. Etude in vitro des activités antibactériennes des extraits bruts de Noni ou Morinda citrifolia L. (RUBIACEAE)

### IV.2. Centre de Traitement Anti-Rabique

1. Dr rakotomalala Ludovic, [MINISTERE DE LA SANTE]. Stage pratique au CTAR (1 jour).
2. Dr ramahefarisoa Nirina, [MINISTERE DE LA SANTE]. Stage pratique au CTAR (1 jour).
3. Dr ratsalovaninatoro Hery, [MINISTERE DE LA SANTE]. Stage pratique au CTAR (1 jour).
4. Dr rasolofohanitrinosy Robivelo, [MINISTERE DE LA SANTE]. Stage pratique au CTAR (1 jour).
5. Dr Raharimanana Bernadette, [MINISTERE DE LA SANTE]. Stage pratique au CTAR (1 jour).
6. Dr Rabary Nary Tiana, [MINISTERE DE LA SANTE]. Stage pratique au CTAR (1 jour).
7. Dr rafolohanitrarivo Cornel, [MINISTERE DE LA SANTE]. Stage pratique au CTAR (1 jour).
8. Dr Tsirinomen'Ny Aina gelle, [MINISTERE DE LA SANTE]. Stage pratique au CTAR (1 jour).
9. Dr RAMBININTSAOTRA VOLOLOTIANA, [MINISTERE DE LA SANTE]. Stage pratique au CTAR (1 jour).
10. Dr Rasoamihaja Hantamalala, [MINISTERE DE LA SANTE]. Stage pratique au CTAR (1 jour).
11. Dr Raveloariso Christian, [MINISTERE DE LA SANTE]. Stage pratique au CTAR (1 jour).
12. Dr Rasolonjanahary Christian, [MINISTERE DE LA SANTE]. Stage pratique au CTAR (1 jour).
13. Dr Andriamandresy Donarivelo, [MINISTERE DE LA SANTE]. Stage pratique au CTAR (1 jour).
14. Dr Randrianjatovo Veloson Léon, [MINISTERE DE LA SANTE]. Stage pratique au CTAR (1 jour).
15. Dr Randrianasolo Tahiry, [MINISTERE DE LA SANTE]. Stage pratique au CTAR (1 jour).
16. Raheijaona Sandaniaina, [FUNHECE]. Stage pratique au CTAR (1 jour).
17. Andriasaomananiaina Claudiance, [FUNHECE]. Stage pratique au CTAR (1 jour).

### IV.3. Unité de Bactériologie Expérimentale

1. Andrianasolonirina Valérie, [LYCEE PAUL ELUARD, BTS Analyses de biologie médicale, Session 2016 (France)]. Mise aux normes internationales de la Biobanque avec identification bactérienne par le spectromètre de masse MALDI-TOF (3 mois).

### IV.4. Unité d'Epidémiologie

1. Dr Rakotoarisoa Alain, [DVSSE Madagascar]. Field Epidemiology Training Programme – Ocean Indian FETP-OI.
2. Dr Randria Nirimanana Mireille, [DVSSE Madagascar]. Field Epidemiology Training Programme – Ocean Indian FETP-OI.

3. Dr Aboubacar Ben Faouz, [Union des Comores]. Field Epidemiology Training Programme – Ocean Indian FETP-OI.

#### IV.5. Unité d'Immunologie des Maladies Infectieuses

1. Andriamiasy Sitraka, [UNIVERSITE BORDEAUX (France)]. Stage d'observation en entreprise (2 mois).
2. Andrianjafy Niriaina, [UNIVERSITE D'Auvergne - CLERMONT-FERRANT (France)]. Stage d'observation en entreprise (2 mois).
3. Raveloson Leong Tatiana, [LYCEE FRANCAIS DE TANANARIVE (Madagascar)]. Découverte du travail de laboratoire et de recherche (1 semaine).
4. Segrestan Viviane, [LYCEE FRANCAIS DE TANANARIVE (Madagascar)]. Découverte du travail de laboratoire et de recherche (1 semaine).

#### IV.6. Unité des Mycobactéries

1. Emilie De Quillacq [Université François-Rabelais (France)]. Valeurs prédictives des tests moléculaires GeneXpert et MTBDRplus pour le diagnostic de la résistance à la rifampicine et à l'isoniazide à Madagascar (6 semaines).
2. Sedera Rabarioelina [Université de Lyon (France)]. Etude de la réponse immunitaire anti-tuberculeuse à partir de macrophages humains infectés par *M. tuberculosis* (stage de Master1. 3 mois)
3. Vincent Jedat [Université de Bordeaux, France. Capacité de Médecine tropicale]. Stage en biologie (1 semaine)
4. Ysé Borella [Université Pierre Marie Curie (France)]. Etude de la réponse cytotoxique de macrophages infectés par différentes souches de *Mycobacterium tuberculosis* (2 mois).

#### IV.7. Unité Paludisme

1. Nathanael Rakotoarinoro [UNIVERSITE DE MONTPELLIER]. Stage d'observation. Diagnostic biologique et initiation à la prise en charge des cas de Paludisme.
2. Marielle Jousse, [UNIVERSITE DE BORDEAUX]. Capacité en Médecine Tropicale. Diagnostic biologique du paludisme

#### IV.8. Unité Peste

1. Rasoloniaina Ny Mandresy Henintsoa, [Institut d'Etudes Politiques, IEP Madagascar]. Stage L3 : Madagascar, un pays vulnérable face aux maladies épidémiques.

### III. Volontariat international

#### IV.9. Unité d'Epidémiologie

1. Florian Girond, [ASSOCIATION FRANCE VOLONTAIRES (France)]. Mission de solidarité internationale.
2. Mickael Casey, [PEACE CORPS].

## IV. Accueil de missionnaires en collaboration

### IV.1. Unité d'Epidémiologie

1. Clémence Delpech, [INSTITUT PASTEUR DE PARIS]. Plague epidemiology in the heterogeneous. Identification et correction des erreurs et incohérences dans les données relatives à l'incidence des infections bactériennes résistantes aux antibiotiques chez les enfants de moins de 2 ans et la mise en place de procédures de data management.
2. Hélène Guis, [CIRAD]. Epidémiologie des maladies vectorielles zoonotiques ou animales (fièvre West Nile, fièvre de la vallée du Rift et Culicoides-borne orbivirus) et de la rage à Madagascar et dans les îles de l'Océan Indien.
3. Sophie Molia, [CIRAD].

### IV.10. Unité de Virologie

1. Alessandra Lo Presti. National Institute of Health, Rome, Italie

## Formations données et reçues

### V. Cours international du Réseau des Instituts Pasteur sur "Les Techniques de l'Immunologie"

Correspondant :

**Inès VIGAN-WOMAS**

Email : [ines@pasteur.mg](mailto:ines@pasteur.mg)

Tél : **+261 20 22 412 72**

**François HUETZ**

Email : [francois.huetz@pasteur.fr](mailto:francois.huetz@pasteur.fr)

**Date de rédaction**

31/03/2015

**Lieux des travaux**

Antananarivo,  
Madagascar

**Budget total**

30 400 €

Co-animateurs IPM

- **Tsikiniaina RASOLOHARIMANANA**, unité d'immunologie des maladies infectieuses, [tsiky@pasteur.mg](mailto:tsiky@pasteur.mg)
- **Emma RAKOTOMALALA**, unité d'immunologie des maladies infectieuses, [emma@pasteur.mg](mailto:emma@pasteur.mg)
- **Elisabeth RAVAOARISOA**, unité paludisme, [elisa@pasteur.mg](mailto:elisa@pasteur.mg)
- **Voahangy ANDRIANARANJAKA**, unité paludisme, [vandrianaranjaka@pasteur.mg](mailto:vandrianaranjaka@pasteur.mg)
- **Anjanirina RAHANTAMALALA**, unité d'immunologie des maladies infectieuses, [anjanirina@pasteur.mg](mailto:anjanirina@pasteur.mg)

Co-investigateurs hors IPM

- **Murielle ALMOUSSA**, Institut Pasteur, Paris,
- **Voahangy RANDRIANARISON**, CNRS, Institut Cochin, Paris

Date début : **19/10/2015**

Date fin : **30/10/2015**

Durée (semaines) : **2**

Financements :

- **Réseau International des Instituts Pasteur, Paris, France**
- **Ambassade de France à Madagascar (SCAC)**
- **Institut Pasteur de Madagascar**

Mots clés : **Immunologie, formation, cytométrie, tri magnétique, multiplex-MagPix, transfection, culture cellulaire, cours du RIIP**

La 1<sup>ère</sup> édition du cours international "Les Techniques de l'Immunologie" a été organisée à l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) du 19 au 30 Octobre 2015. Cette formation a pour objectif de dispenser localement un enseignement d'Immunologie, centré surtout sur les cellules B, principalement pratique mais également théorique. Il s'agit de présenter un ensemble aussi complet que possible des technologies modernes de l'Immunologie actuelle, et de favoriser leur maîtrise. L'enseignement est centré autour d'une question scientifique cruciale dans la réponse immunitaire, permettant ainsi également

d'aborder différents aspects récents des connaissances dans le domaine. Ainsi, le modèle d'étude est la protéine AID (Activation-Induced Deaminase), une protéine-clé dans la génération de la diversité des anticorps produits par les lymphocytes B. Son rôle est analysé par différentes approches scientifiques et à l'aide de plusieurs techniques. Parmi les technologies centrales en Immunologie, les techniques d'Immunologie cellulaire, comme la culture de cellules, la transfection de cellules et de bactéries sont utilisées. La connaissance et la maîtrise de la cytométrie de flux, un outil actuellement incontournable en immunologie constituent un point fort de l'enseignement. De même, des techniques utilisées en immunologie moléculaire, comme la PCR en temps réel (RT-PCR) et le séquençage, sont employées. Enfin, pour les études *in vivo*, la manipulation d'animaux de laboratoire et en particuliers des souris est initiée.

Pour cette 1<sup>ère</sup> édition, 16 apprenants (étudiants, techniciens, Ingénieurs et chercheurs) venant de l'IP Madagascar, de l'Université d'Antananarivo, de l'Institut Pasteur de Dakar et de l'Institut Pasteur de Bangui ont été sélectionnés. Nous remercions nos partenaires techniques et financiers dont, le Réseau International des Instituts Pasteur, l'Ambassade de France à Madagascar à travers son Service de Coopération et d'Action Culturelle (SCAC), l'IP Paris et l'IPM.



Apprenants et formateurs du cours sur les "Techniques de l'Immunologie" IPM-2015



## VI. CDC/APHL International workshop on Influenza rRT-PCR diagnosis

Du 27 au 30 janvier 2015, l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM), a hébergé dans ses locaux un « Cours avancé sur le diagnostic de la grippe ». Sous l'initiative de l'agence gouvernementale Américaine, Centers for Diseases Control and Prevention (CDC) et l'Association of Public Health Laboratory (APHL), avec l'appui de l'unité virologie de l'Institut Pasteur de Madagascar, ce cours visait à renforcer les compétences et les capacités des laboratoires dans les régions Afrique et Océan Indien, ainsi qu'une remise à niveau sur les techniques actuelles de détection des virus grippaux. Des apprenants en provenance de 18 pays d'Afrique et de l'Océan Indien, dont 3 de Madagascar, y ont participé. L'équipe de formateurs était composée d'experts techniques du CDC, de l'unité de virologie de l'IPM et du laboratoire de virologie de l'île Maurice.

Ce Cours avancé pour le diagnostic de la grippe portait essentiellement sur :

- Le renforcement des connaissances au sujet de :
  - l'épidémiologie et la biologie de la grippe,
  - les nouvelles émergences de virus grippaux.
  - Les principes de la surveillance virologique de la grippe
  - Les aspects de biosécurité et de management des informations.
- La mise à jour sur les techniques de diagnostic de la Grippe ;
- L'identification et la résolution des problèmes techniques couramment rencontrés pour ce type de diagnostic.

### Perspectives

A l'issue de ce cours, il est attendu des participants de (i) savoir mettre en place et maintenir le test de diagnostic de la grippe par les techniques modernes actuelles ; et (ii) d'être capable d'analyser et résoudre éventuellement les problèmes techniques qui peuvent survenir (contamination, baisse d'efficacité, etc.). En résumé, que les laboratoires améliorent leurs performances dans le cadre de la surveillance virologique de la grippe.

Les apprenants et formateurs ont fait part de leur satisfaction quant à ce cours. Le souhait de l'adapter pour les besoins au niveau national (laboratoires régionaux), Régional (Comores) et International (Réseau International des Instituts Pasteur) a été formulé.

L'IPM qui héberge depuis 1972 le Centre National de Référence (CNR) OMS contre la grippe a acquis depuis plusieurs années une reconnaissance internationale. Ce CNR a en charge, entre autres, de coordonner l'ensemble des activités de surveillance de la grippe mais aussi des autres virus respiratoires sur le territoire Malagasy, en collaboration avec le Ministère de la Santé Publique. Le but de cette surveillance est la détection rapide des épidémies et de nouveaux virus pandémiques, le partage des informations au niveau international pour la mise à jour annuelle du vaccin et renseigner le Ministère de la Santé sur les risques pour la population par rapport aux infections dues aux virus grippaux et respiratoires.

## VII. Formation END NOTE – MENDELEY

### VII.1. Unité Paludisme

1. Elie Noro Bakoly RAHOLIMALALA
2. Martial JAHEVITRA
3. Rogelin RAHERINJAFY

## VIII. Formation règlementation des transports de marchandises dangereuses

### VIII.1. Unité du paludisme

1. Elie Noro Bakoly RAHOLIMALALA
2. Elisabeth RAVAOARISOA

## IX. Animation Scientifique à l'IPM

### IV.2. Unité d'Epidémiologie

Equipe CELSIGS, **Formations en QGIS, Version 2.8.1 Wien (2 Sessions)** : organisées à l'IPM, cibles : les chercheurs de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM), doctorants / masters (nationaux ou internationaux) de l'IPM ainsi que des personnels du Ministère de la Santé qui sont amenés à collaborer avec des différentes unités de l'IPM.

La première session du 26 au 29 mai a réuni 15 participants. La deuxième session du 8 au 11 juin a réuni 16 participants.

1. **Rakotomanana Fanjasoa** : apprenant, **Formation à la rédaction scientifique** intitulée en ligne « Authoraid Research Writing Online Course » : organisée par INASP (International Network for the Availability of Scientific Publications), 20 Oct au 30 Nov 2015.
2. **Rakotoarison Anthonio, Ihantamalala Felana Angella** : **Mendeley software**, 18-19 mai 2015, CEDOC, IPM.

## V. Animation Scientifique hors des murs

### V.1. Unité d'épidémiologie

1. **Rakotomanana Fanjasoa** : participant, **Atelier de consultation nationale pour la mise en place du cadre national pour les services climatologiques**, Antananarivo, 13 au 15 Juillet 2015. Cet atelier a été suivi d'une réunion pour la mise en place du Cadre National pour les Services Climatologiques (CNSC) du « task force », 27 juillet 2015.
2. **Rakotoarison Anthonio** : participant, Scientific communication : **Article writing and publishing**, AuthorAID, Madagascar.

## VI. Formations et participation à des animations scientifiques à l'étranger

### VI.1. Unité d'Epidémiologie

1. **Rila Ratovoson**. Apprenant. Institut de Formation Doctorale, Département Formation et Carrière de l'Université de Pierre et Marie Curie, Paris, 23 Novembre 2015 : Séminaire « Découvrez les principes d'efficacité de la communication écrite et orale » ;
2. **Rila Ratovoson**. Apprenant. Institut de Formation Doctorale, Département Formation et Carrière de l'Université de Pierre et Marie Curie, Paris, 2 – 3 Décembre 2015 : Atelier « Communiquez efficacement à l'écrit » ;

3. **Rila Ratovoson.** Apprenant. Institut de Formation Doctorale, Département Formation et Carrière de l'Université de Pierre et Marie Curie, Paris, 14 – 15 Décembre 2015 : Atelier « Conduisez efficacement vos entretiens et réunions » ;
4. **Rila Ratovoson.** Apprenant. Institut de Formation Doctorale, Centre International d'Etudes Pédagogiques de Sèvres, Paris, 07 au 11 décembre 2015 : Séminaire résidentiel Doctoriales® Sorbonne Universités.
5. **Rakotomanana Fanjasoa, Rakotoarison Hobiniaina Anthonio.** Participant. XIIIème Journées scientifiques du Réseau de télédétection, Dakar. La Télédétection et le Système d'Information Géographique, un outil d'aide à la décision dans la lutte contre le paludisme à Madagascar.
6. **Rakotomanana Fanjasoa.** Participant. GEOMED, Florence, Italy. Case studies of GIS in public Health in Madagascar: benefits and limits.
7. **Rakotomanana Fanjasoa.** Participant. Pretoria, Afrique du Sud. Panorama of activities linked to vector-borne diseases. Atelier "Malaria and Space".
8. **Perlinot Herindrainy.** Apprenant. Institut de Santé Publique, d'Epidémiologie et de Développement (ISPED), Université de Bordeaux. Essais thérapeutiques : méthodes et pratiques.

### IX.1. Unité de Virologie

1. **Jean Michel Héraud.** 1st International Meeting on Respiratory Pathogens (IMRP), Singapore 2-4 September 2015 (chairman of a session)
2. **Jean Michel Héraud.** ASPR – PASTEUR COOPERATIVE AGREEMENT InPRIS Close-Out – ASIDE Kickoff meeting, Washington, USA, 23-25 March 2015.
3. **Jean Michel Héraud.** Second WHO Meeting on Seasonal Influenza Vaccine Composition for the Tropics and Subtropics, Pune, India, 8–10 July 2015
4. **Jean Michel Héraud.** Technical Working Group Meeting on Influenza Severity Assessment WHO Headquarters, Geneva, M-105, 1-2 June 2015.
5. **Jean Michel Héraud.** WHO technical consultation on influenza disease burden, Geneva, Switzerland, 8-10 December 2015.

# Activités de diagnostic



**Santé publique**

## Activités de diagnostic

<b>CBC</b>	
Centre de Biologie Clinique (hors anatomopathologie).....	3
<b>CCOMS Peste</b>	
Centre collaborateur OMS pour la lutte et les recherches sur la peste.....	5
<b>CIV</b>	
Centre International de Vaccination .....	7
<b>CNRM</b>	
Centre National de Référence des Mycobactéries.....	10
<b>CTAR</b>	
Centre de Traitement Anti-Rabique .....	14
<b>DISP</b>	
Dispensaire .....	17
<b>LC Bilharziose</b>	
Laboratoire Central de la Bilharziose .....	19
<b>LC Peste</b>	
Laboratoire Central de la Peste : surveillance de la peste humaine .....	23
<b>LHAE</b>	
Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement .....	27
<b>PRBM</b>	
Projet de Réhabilitation du Bas Mangoky .....	31
<b>SurvArbo</b>	
Surveillance des arboviroses à Madagascar .....	34
<b>SurGIR</b>	
Surveillance de la grippe et des infections respiratoires à Madagascar .....	36
<b>SurvPolio PFA</b>	
Surveillance des paralysies flasques aiguës et de la poliomyélite à Madagascar .....	41
<b>SurvRage</b>	
Surveillance de la rage à Madagascar .....	46
<b>SurvéRo</b>	
Surveillance de la Rougeole à Madagascar .....	49
<b>SQ-AQ</b>	
Service qualité : assurance qualité .....	51

---

**SQ-HSE**

Service qualité : biosécurité ..... 53

**SQ-MET**

Service qualité : métrologie..... 57

---

**CBC****Centre de Biologie Clinique (hors anatomopathologie)**

Correspondant : **Frédérique RANDRIANIRINA** Email : [frederique@pasteur.mg](mailto:frederique@pasteur.mg) Date de rédaction : 29/01/2015  
Tél : **+261 20 22 412 72**

Chef de Service :

- **Dr Frédérique RANDRIANIRINA**, Médecin Biologiste, [frederique@pasteur.mg](mailto:frederique@pasteur.mg)

Adjoints :

- **Dr Elisoa RATSIMA**, Médecin Biologiste, [elisoa@pasteur.mg](mailto:elisoa@pasteur.mg)

- **Dr Lovasoa RAMPARANY**, Médecin Biologiste, [lova@pasteur.mg](mailto:lova@pasteur.mg)

Mots clés : **Laboratoire d'Analyses de Biologie Médicale (LABM)**

## I. Contexte & justification

Le Centre de Biologie Clinique (CBC) est un Laboratoire d'Analyses Biomédicales polyvalent qui met ses compétences et ses capacités techniques au service du public en lui offrant le plus large éventail possible d'analyses médicales réalisées dans les meilleures conditions de fiabilité, de rapidité et de coût.

En 2015 le laboratoire a traité **112 685** dossiers et **21 161 109** B. Il est ouvert au public sans interruption de 7h00 à 17h00, du lundi au vendredi, et de 08h00 à 16h00 les week-ends et jours fériés

Le centre de prélèvement est ouvert de 7h00 à 16h00 du lundi au vendredi et de 7h00 à 15h00 les samedis.

Le CBC travaille en collaboration avec le laboratoire CERBA pour les analyses spécialisées.

Avec le Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement, il est Centre national de référence des salmonelles, shigelles et du choléra.

Le plateau technique comprend 5 secteurs : hématologie, bactériologie, immuno-sérologie, biochimie, anatomo-cytopathologie (cf. fiche LACP).

Les panels d'analyses sont présentés dans le catalogue du laboratoire qui est en ligne (<http://www.pasteur.mg>). Un manuel de prélèvement avec toutes les recommandations relatives à l'étape pré-analytique des analyses est aussi disponible en ligne et au laboratoire.

L'activité du CBC est sous démarche qualité en vue de l'accréditation à la norme NF EN ISO 15189.

## II. Faits marquants de l'année

Ouverture 7j/7 du laboratoire et portes ouvertes pour les prescripteurs.

## III. Activités

Le laboratoire participe aux activités de recherche de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) ainsi que du Réseau International des Instituts Pasteur (RIIP). Le laboratoire travaille surtout en collaboration avec les autres unités de recherche de l'IPM. En 2015, les activités de recherche du laboratoire portaient sur les projets:

- **BIRDY** dont l'objectif principal de l'étude est d'estimer l'incidence des infections bactériennes résistantes aux antibiotiques : infection néonatale (<28 jours de vie), infections du nourrisson et de l'enfant (28jours à < 2ans). Depuis le début de l'étude en 2013, nous avons pris en charge **4443**

**prélèvements** dont 1031 prélèvements vaginaux, 1123 recherches de bactéries multi-résistantes dans les selles 453 hémocultures, 609 Expectorations, 482 E.C.B.U, 239 prélèvements d'ORL, 173 Coprocultures, 153 prélèvements de placenta, 164 Liquides gastriques et 16 LCR.

- ENISM 2015-2015 : Enquête nationale sur l'Iode et le Sel à Madagascar. collecte des données sur terrain : 25 novembre 2014 – 21 janvier 2015
- Notre rôle est la prise en charge des prélèvements urinaires pour dosage des ionogrammes et créatinines urinaires, marqueurs indispensables pour l'interprétation de l'élimination des iodes. En 2015, nous avons reçu **225 prélèvements**.
- **Complications des avortements provoqués à Madagascar** par l'évaluation de l'incidence et des déterminants des infections post-abortives en milieu hospitalier à Antananarivo ; le laboratoire a traité 71 demandes pour ce projet en 2015.

#### IV. Tableau d'activité synthétique annuelle

Secteur	Demandes	Nombres de B
Biochimie	55 435	6 424 847
Immuno-sérologie	35 460	7 171 237
Hématologie	44 660	2 858 599
Microbiologie	22 037	3 734 571
Vaccination	1 669	Non coté en B
Kit de prélèvement	3 896	38 960
CERBA	10 477	Non coté en B

#### V. Mise en perspective

Le CBC, dont les activités sont principalement des activités de diagnostic, répond aux différentes missions pasteurienne. Le laboratoire sert d'observatoire biologique et en particulier microbiologique. Il est un support à plusieurs programmes de recherche et à la formation d'internes en biologie médicale (stage d'internat validant obligatoire de 6 mois), de techniciens de laboratoire venant d'instituts de formation publics ou privés. En 2016, le CBC a pour objectif, l'ouverture d'un site en milieu hospitalier pour assurer les activités 24h/24 et 7j/7.

#### VI. Publications

- Chereau F, Herindrainy P, Garin B, Huynh BT, **Randrianirina F**, Padget M, Piola P, Guillemot D, Delarocque-Astagneau E. Colonization of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase- and NDM-1-producing Enterobacteriaceae among pregnant women in the community in a low-income country: a potential reservoir for transmission of multiresistant Enterobacteriaceae to neonates. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(6):3652-5.

**CCOMS Peste****Centre collaborateur OMS pour la lutte et les recherches sur la peste**

Correspondant : **Minoarisoa RAJERISON** Email : [mino@pasteur.mg](mailto:mino@pasteur.mg) Date de rédaction : 27/02/2016  
Tél : **+261 20 22 412 72**

Directeur du centre :

- **Christophe Rogier**, Directeur, [crogier@pasteur.mg](mailto:crogier@pasteur.mg)

Responsables de l'activité

- **Minoarisoa RAJERISON**, unité peste, [mino@pasteur.mg](mailto:mino@pasteur.mg)

- **Jean Michel RAZAFIMAHATRATRA**, LCP/SLMEN/MSanP, [razafimichel@pasteur.mg](mailto:razafimichel@pasteur.mg)

- **Soanandrasana RAHELINIRINA**, unité peste, [raheli@pasteur.mg](mailto:raheli@pasteur.mg)

- **Voahangy ANDRIANAIVOARIMANANA**, unité peste, [kekely@pasteur.mg](mailto:kekely@pasteur.mg)

## I. Contexte & justification

L'unité peste de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) a été désignée quatre fois centre collaborateur OMS (CCOMS) pour la lutte et les recherches sur la peste. Le premier mandat de 4 ans de CCOMS a été accordé en mai 1998, le deuxième en avril 2004 et le troisième en juillet 2009. Pour ces 3 premiers mandats, le centre collaborateur (CC) a assuré la mise en œuvre des activités répondants aux mêmes termes de références. Lors de la désignation pour le quatrième mandat de juin 2014 à juin 2018, une proposition de termes de références a été reçue du responsable au siège de l'OMS à Genève. En conséquence, les activités y afférentes ont été établies par le CC. L'Officier Régional de l'OMS a approuvé les activités proposées et la décision de désignation après étude de dossier par une commission a été rendue officielle au mois de juillet 2014.

## II. Termes de références (TDR) pour le mandat du CCOMS de juin 2014 à juin 2018

1. Fournir à l'OMS une expertise technique pour l'identification des souches et leur susceptibilité aux antibiotiques, ainsi que pour la surveillance épidémiologique, l'investigation et le contrôle des épidémies ;
2. Participer aux formations organisées par l'OMS relatives aux techniques de laboratoire et aux mesures de contrôle de la peste ;
3. Sur demande de l'OMS et dans la mesure des moyens du CC, fournir des tests de diagnostic rapide aux pays touchés par une épidémie ;
4. Contribuer à l'élaboration ou actualisation des guides pour le diagnostic biologique de la peste.

### III. Faits marquant de l'année

La surveillance épidémiologique de la peste à Madagascar semble être fonctionnelle, mais des problèmes organisationnels et de gouvernance ressentis de la base jusqu'au niveau central du système de santé se sont exprimés par des difficultés dans le contrôle d'épidémies. Un atelier « Leçons apprises de la précédente saison pesteuse » a été organisé avec le concours du CCOMS en présence d'un expert de l'OMS Siège dans l'objectif d'élaborer un plan d'action qui répond directement aux besoins de la lutte contre cette pathologie. Il entre dans le cadre du TDR 1 (fournir à l'OMS une expertise technique pour la surveillance épidémiologique et le contrôle des épidémies).

Pour répondre au TDR 3, le CCOMS a produit plus de 5000 tests de diagnostic rapide de la peste en 2015 avec le support de l'OMS, de la Banque Africaine pour le Développement (BAD) et de l'IPM. Vingt-quatre districts à Madagascar ont bénéficié d'une dotation de 1150 tests de diagnostic rapide de la peste et de kit de prélèvement. Les restes ont été utilisés dans le cadre de la surveillance des réservoirs (3842) et de la peste humaine (354) réalisée au LCP.

Le CCOMS est aussi un laboratoire de référence pour le contrôle de qualité externe des laboratoires en Afrique dans le cadre du programme « WHO proficiency testing scheme » et le « National Health Laboratory Service (NHLS) » en Afrique du Sud. Six échantillons ont été référés au CCOMS en 2015.

**CIV****Centre International de Vaccination**

Correspondant :

**Ravoniaina RAMIANDRASOA**Email : [vaccins@pasteur.mg](mailto:vaccins@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction

29/02/2016

Responsables de l'activité :

- **Ravoniaina RAMIANDRASOA**, service médical, [ravo@pasteur.mg](mailto:ravo@pasteur.mg)- **Caroline ANDRIANJAFY**, [caroline@pasteur.mg](mailto:caroline@pasteur.mg)Mots clés : **Vaccins, vaccinations internationales**

## I. Contexte & justification

Le Centre International de Vaccination (CIV) est un centre de consultation en matière de vaccination. Il assure les vaccinations recommandées à Madagascar ou exigées pour les voyages internationaux. Il assure aussi la réalisation d'intradermoréaction (IDR) à la tuberculine. Il est enfin fournisseur de produits utilisés en allergologie à Madagascar.

## II. Faits marquants de l'année

Les activités du CIV ont connu une baisse de 4,6%. L'annexe du centre de vaccination ouvert en décembre 2014 a assuré 10,20% des activités du CIV. A noter que les produits utilisés en allergologie sont indisponibles depuis le fournisseur depuis 7 mois.

## III. Tableaux d'activité synthétique annuelle 2015

**Tableau 1 : Nombre de vaccins administrés au CIV (hors vaccin amaril)**

Nature du vaccin	Nom générique du vaccin	Nombre vaccinations	%
<b>Avaxim</b>	Anti hépatite A	454	2,85
<b>Avaxim pédiatrique</b>	Anti hépatite A	541	3,40
<b>Meningo A+C</b>	Anti méningococcique A et C	1378	8,65
<b>Pneumo 23</b>	Anti pneumococcique	1368	8,59
<b>ROR</b>	Anti rougeoleux	1430	8,98
	Ourlien		
	Rubéoleuse		
<b>Verorab</b>	Anti rabique (préventif)	345	2,17
<b>Infanrix Hexa</b>	Anti diphtérique	234	1,47

Nature du vaccin	Nom générique du vaccin	Nombre vaccinations	%
	Tétanique Coquelucheuse Poliomyélitique Haemophilus Influenzae B Hépatite B		
<b>Tetavax</b>	Anti tétanique	221	1,39
<b>Typhim Vi</b>	Anti typhique	1720	10,80
<b>Dultavax</b>	Anti diphtérique Tétanique Poliomyélitique	1049	6,59
<b>Vaxigrip</b>	Anti grippal	3461	21,73
<b>Pentaxim</b>	Anti diphtérique Tétanique Coquelucheuse Poliomyélitique Haemophilus Influenzae B	724	4,55
<b>Euvax B pédiatrique</b>	Anti hépatite B	1300	8,16
<b>Act Hib</b>	Haemophilus Influenzae B	45	0,28
<b>Euvax B adulte</b>	Anti hépatite B	1603	10,07
<b>Tetraxim</b>	Anti diphtérique Tétanique Coquelucheuse Poliomyélitique	53	0,33
<b>Total</b>		<b>15926</b>	<b>100</b>

**Tableau 2 : Vaccinations internationales**

Nature du vaccin	Nom générique du vaccin	2015
<b>Stamaril</b>	Anti fièvre jaune	2240

**Tableau 3 : Test IDR à la tuberculine**

Nature du produit	Nom générique du produit	2015
<b>Tubersol</b>	Tuberculine	495

#### IV. Mise en perspective

Le CIV envisage d'approfondir son activité de vaccino-vigilance.

CNRM		Centre National de Référence des Mycobactéries	
Correspondant :	Email : <a href="mailto:vrasolof@pasteur.mg">vrasolof@pasteur.mg</a>	Date de rédaction	
<b>Voahangy RASOLOFO</b>	Tél : <b>+261 20 22 412 72</b>	22/02/2016	
Responsables de l'activité :			
- <b>Andrianantenaina RAKOTOSON</b> , Centre National de Référence des Mycobactéries, <a href="mailto:ndrian@pasteur.mg">ndrian@pasteur.mg</a>			
- <b>Voahangy RASOLOFO</b> , Unité mycobactéries, <a href="mailto:vrasolof@pasteur.mg">vrasolof@pasteur.mg</a>			
Mots clés : <b>Tuberculose, diagnostic, microscopie, culture, résistance, tests moléculaires</b>			

## I. Contexte & justification

Le centre national de référence des mycobactéries (CNRM) comprend le Service de laboratoire des mycobactéries du ministère de la santé (SLM) de la Direction de Lutte contre la Tuberculose (DLT) à l'ex-institut d'Hygiène Sociale (IHS) et le laboratoire des mycobactéries de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM).

Le Laboratoire des mycobactéries de l'IPM effectue le diagnostic de la tuberculose (TB) pour le centre de biologie clinique (CBC) de l'IPM, le programme national de lutte contre la tuberculose (PNLT, Ministère de la Santé), les activités de surveillance de la résistance pour le PNLT et les activités de recherche. Tous les échantillons sont analysés par microscopie à fluorescence après coloration à l'auramine. La culture est demandée pour les cas de TB de diagnostic difficile (tuberculose pulmonaire à microscopie négative, tuberculose de l'enfant, tuberculose extrapulmonaire), des enquêtes et des projets de recherche. Après réalisation du test GeneXpert (Cepheid) chez les cas déjà traités (échec, rechute ou reprise de traitement) par le SLM les tests de sensibilité (tests génotypiques HAIN et méthode des proportions sur milieu de Löwenstein-Jensen [LJ]) sont effectués à l'IPM. Par ailleurs, ces derniers ont essentiellement un intérêt dans la surveillance épidémiologique de la résistance aux antituberculeux et de manière plus spécifique de la multirésistance (MDR) à au moins l'isoniazide (INH) et la rifampicine (RIF).

## II. Tableaux d'activité synthétique annuelle

### II.1. Prélèvements reçus

Organisme demandeur	Nombre	Pourcentage
CBC (IPM)	1218	60
Recherche :		
MADAXPERT	83	4
TBLATAS	140	7
PNLT :		
CNRM	37	2
TB-MR	569	28
<b>Total</b>	<b>2047</b>	

### II.2. Microscopie

Type d'échantillons	Négative	Positive (%)	Total
Pulmonaire	1375	431	1806
Extrapulmonaire	230	11	241
<b>Total</b>	<b>1605</b>	<b>442</b>	<b>2047</b>

### II.3. Culture sur milieu de Löwenstein-Jensen

Type d'échantillons	Négative	Positive (%)*	En cours	Prélèvement contaminé	Total
Pulmonaire	551	352	10	5	551
Extrapulmonaire	195	40	1	1	195
<b>Total</b>					

\* Pourcentage calculé par rapport aux résultats disponibles

### II.4. Identification (par test SD MPT64 et, si confirmation nécessaire, par les tests biochimiques et/ou par GenoType Mycobacterium CM/AS [HAIN])

Type d'échantillon	Complexe M. tuberculosis	Mycobactérie atypique	En attente	Total
Pulmonaire	325	1	4	330
Extrapulmonaire	37	0	0	37
<b>Total</b>	<b>362</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>367</b>

### III. Tableaux de résultats annuels

#### III.1. Résistance aux antituberculeux de 1<sup>ère</sup> ligne INH et RIF par la méthode des proportions sur LJ

Résistance	Cas					Total
	Inconnu	Nouveau cas	Echec	Rechute	Reprise	
Sensibles	6	27	2	27	10	72
Résistant s à INH seul	0	0	0	0	0	0
Résistants à RIF seul	0	0	0	2	0	2
Résistants à RIF et EMB	0	0	0	1	0	1
MDR <sup>1</sup>	1	0	4	4	1	10
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>27</b>	<b>6</b>	<b>34</b>	<b>11</b>	<b>85</b>

<sup>1</sup>Multirésistance à au moins INH et RIF

#### III.2. Résistance aux antituberculeux de 2<sup>nde</sup> ligne (ofloxacine, kanamycine, amikacine, capréomycine)

Cas testés	Nouveau cas	Echec	Inc	Rechute	Reprise
Sensibles	0	4	1	9	1
Résistants	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>9</b>	<b>1</b>

#### III.3. Détection de *M. tuberculosis* (MTB) avec le test moléculaire GeneXpert MTB/RIF

Cas testés	Microscopie positive		Microscopie négative	
	Culture		Culture	
	Positive	Négative	Positive	Négative
MTB détecté	0	4	14	6
MTB non détecté	43	42	193	51
Ininterprétable	2	4	0	0
<b>Total</b>	<b>45</b>	<b>50</b>	<b>207</b>	<b>57</b>

### III.4. Dépistage des patients avec souches résistantes à la RIF avec le test GeneXpert MTB/RIF

Test GeneXpert	Résistance à RIF par test MTBDR <i>plus</i> (HAIN)			Test de résistance à RIF sur milieu L <sup>1</sup>		
	Détectée	Non détectée	Indéterminée	Résistant	Sensible	Non fait
Résistance à RIF détectée	16	7	1	10	2	0
Résistance à RIF non détectée	10	292	3	1	28	0
Indéterminée	1	3	0	0	1	0
Test non fait	14	116	9	5	41	0
<b>Total</b>	<b>41</b>	<b>418</b>	<b>13</b>	<b>16</b>	<b>72</b>	<b>0</b>

<sup>1</sup>Méthode indirecte des proportions critiques

**CTAR****Centre de Traitement Anti-Rabique**

Correspondant :

**Ravoniaina RAMIANDRASOA**Email : [vaccins@pasteur.mg](mailto:vaccins@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction

29/02/2016

Responsables de l'activité :

- **William RAKOTOMALALA**, service médical, [malala@pasteur.mg](mailto:malala@pasteur.mg)- **Fara Marie Annie RANDRIANARIVONY**, service médical, [mannie@pasteur.mg](mailto:mannie@pasteur.mg)Mots clés : **Rage, vaccination anti rabique**

#### IV. Contexte & justification

Suivant la convention de 1961, entre l'Etat Malagasy et l'Institut Pasteur à Paris, le centre de traitement antirabique de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) traite à titre gratuit les personnes exposées à la rage et approvisionne en vaccin anti-rabique, à ses frais, les 30 centres de traitement antirabique (CTAR) de Madagascar.

#### V. Faits marquants de l'année

La célébration de la journée mondiale de la rage s'est tenue à 6 endroits différents : à l'Hôtel de Ville Analakely le 28 septembre, à Imerintsiatosika le 30 septembre, à Anjozorobe le 01 octobre, à Behenjy le 09 octobre et à Mahitsy le 15 octobre. Le CEG Antanimena a bénéficié d'une sensibilisation sur la rage de tous les élèves le 22 octobre.

## VI. Tableaux d'activité synthétique annuelle

**Tableau 1 :** Répartition des patients selon le type de traitement et l'application de sérothérapie au début de la prise en charge (IPM)

	Vaccin sur Culture cellulaire		Patients traités	non	Total patients reçus
	Protocole Thaïlandais Intra dermique	Protocole OMS intra musculaire			
<b>Avec sérothérapie</b>	2 006	4		0	2 010
<b>Sans sérothérapie</b>	3552	11		102	3665
<b>Total</b>	5 558	15		102	5 675

**Tableau 2 :** Répartition des caractéristiques des principales espèces animales selon les caractéristiques décrites lors de la consultation initiale

Caractéristique de l'animal	Nombre	Pourcentage
<b>Errant ou disparu</b>	2 071	36,12
<b>Domestique (propriétaire connu)</b>	3 185	55,56
<b>Domestique abattu ou mort de "maladie"</b>	477	8,32
<b>Total</b>	5 733	100

**Tableau 3 :** Nombre de vaccins fournis aux centres de traitement anti-rabique de Madagascar

Centres de traitement antirabique	2015
<b>IPM</b>	16 416
<b>Autres CTAR</b>	23 930
<b>Total</b>	40 346

## VII. Mise en perspective

Mise en place d'une nouvelle base de données pour les patients du CTAR.

## VIII. Productions scientifiques

### VIII.1. Communications affichées

- **Ravoniaina RAMIANDRASOA** : « Fantaro ny haromotana », Analakely (28 Septembre 2016), Imerintsiatosika (01 septembre 2016), Anjozorobe (01 octobre 2016), Behenjy (09 octobre 2016), Mahitsy (15 octobre 2016), Antanimena (22 octobre 2016), IPM, Antananarivo

Centres de Traitement Anti-rabique (CTAR)



**DISP****Dispensaire**

Correspondant :

**Ravoniaina RAMIANDRASOA**Email : [vaccins@pasteur.mg](mailto:vaccins@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction

29/02/2016

Responsables de l'activité :

- **William RAKOTOMALALA**, service médical, [malala@pasteur.mg](mailto:malala@pasteur.mg)- **Fara Marie Annie RANDRIANARIVONY**, service médical, [mannie@pasteur.mg](mailto:mannie@pasteur.mg)Mots clés : **Dispensaire, médecine du personnel, médecine de travail****I. Contexte & justification**

Le dispensaire de l'Institut Pasteur de Madagascar est ouvert gratuitement à son personnel et ses ayants droits. Il propose un système de soins à tiers payant pour les prescriptions. Il sert aussi de support à la médecine du travail.

**II. Faits marquants de l'année**

Pour améliorer le diagnostic des affections respiratoires, et pour évaluer l'impact de la grippe sur la santé du personnel de l'IPM ainsi que la pertinence éventuelle de sa vaccination, un prélèvement systématique de tout le personnel présentant un syndrome grippal pour isolement du virus grippal a été effectué pendant l'année 2015 : 132 prélèvements ont été réalisés.

**III. Tableaux d'activité synthétique annuelle****Tableau 1 : Nombre de différentes consultations et visites**

Type de consultation	Nombre de patients
Consultations générales	5651
Visite systématique	227
Visite d'embauche	75
Visite de reprise	13
Consultations pour accident à l'exposition au sang	1
Consultations pour accident de travail	2

Tableau 2 : Suites des différentes consultations

Suites des différentes consultations	Nombre de cas
Arrêt de travail	741
Repos médical	446
Assistance maternelle	141
Bilans biologiques	776
Examens spécialisés	192
Consultations spécialisées	715
Soins spécialisés	239
Prophylaxie	259
Hospitalisations	62

Tableau 3 : Nombre et pourcentage des consultants suivant les motifs de consultations

Motifs de consultations	Nb patients	%	Motifs de consultations	Nb patients	%
Respiratoires	823	14,56	Parasitoses	172	3,04
Cardiologie	765	13,54	Neurologie	139	2,46
ORL	586	10,37	Maladies infectieuses	49	0,87
Gastro-entérologie	468	8,28	Néphrologie	39	0,69
Maladie du système	34	0,60	Fièvre	99	1,75
Gynéco-obstétrique	436	7,72	Suivi d'une pathologie	91	1,61
Chirurgie	34	0,60	TIAC	1	0,02
Stomatologie	297	5,26	Endocrinologie	34	0,60
Ophtalmologie	259	4,58	Urologie	34	0,60
MST	12	0,21	Cancérologie	45	0,80
Maladies métaboliques	255	4,51	Planning familial	8	0,14
Dermatologie	252	4,46	Hématologie	21	0,37
Rhumatologie	187	3,31	Appareil locomoteur	5	0,09
Traumatologie	127	2,25	Autres	270	4,78
Allergologie	109	1,93	<b>Total</b>	<b>5651</b>	<b>100</b>

#### IV. Mise en perspective

Les locaux du dispensaire seront remis à neuf et agrandis afin d'améliorer l'accueil du personnel et de leurs ayant-droits.

**LC Bilharziose****Laboratoire Central de la Bilharziose**

Correspondant :

Vololomboahangy RAVAOALIMALALA

Email : [andriv@pasteur.mg](mailto:andriv@pasteur.mg)Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction

20/01/2016

Co-investigateur IPM

- **Armand RAFALIMANANTSOA**, unité helminthiases, [araf@pasteur.mg](mailto:araf@pasteur.mg)- **Fabienne RASOAMANAMIHAJA**, laboratoire central bilharziose, [fabienne@pasteur.mg](mailto:fabienne@pasteur.mg)- **Pascaline RAVONIARIMBININA**, unité helminthiase. [pascaline@pasteur.mg](mailto:pascaline@pasteur.mg)

Lieux des travaux



Financements :

**Organisation Mondiale de la Santé (ponctuel)**Mots clés : **Schistosomiasés, géohelminthiases**

## I. Contexte & justification

Le laboratoire central bilharziose, laboratoire du Ministère de la Santé Publique rattaché au Service de Lutte contre les Maladies Epidémiques et Négligées (SLMEN) de la Direction Générale de la Santé (DGS), sous la responsabilité technique de l'Institut Pasteur de Madagascar, assure l'appui technique dans toutes les activités du Programme national nécessitant l'expertise parasitologique du Laboratoire. Depuis des années, le Laboratoire assure avec le peu de moyens disponibles la surveillance épidémiologique de cette grande endémie du pays.

Depuis 2008, le laboratoire assure le suivi et l'évaluation de la distribution de masse de médicaments (DMM) contre la schistosomiase et les géohelminthiases (*i.e.* helminthes transmissibles par le sol), dans le cadre de la lutte contre les Maladies Tropicales Négligées (MTN).

## II. Fait marquant

Formation et remise à niveau de la compétence technique des techniciens de laboratoire de districts sanitaires périphériques dans le cadre de l'élaboration de la cartographie des schistosomiasés et des géohelminthiases à travers un financement de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS).

## III. Activités de l'unité

### III.1. Enquêtes épidémiologiques

- Enquêtes parasitologiques pour la cartographie des schistosomiasés et géohelminthiases, en collaboration avec la Division Bilharziose du SLMEN, avec l'appui financier du Schistosomiasis Control Initiative (SCI) dans les districts de Miarinarivo, Soavinandriana, Tsiroanomandidy, Morombe et Sakaraha et de OMS dans les districts de Kandrehy et Anjozorobe (Tableau 1) ;
- Enquêtes parasitologiques sur les schistosomiasés et les géohelminthiases dans les nouveaux sites

sentinelles, en collaboration avec la Division Bilharziose du SLMEN et avec l'appui financier du SCI dans les districts de Belo Tsiribihina, Morombe, Toliara II, Sakaraha, Beroroha, Mandritsara, Befandriana, Port Bergé et Mampikony.

- Enquêtes parasitologiques sur le téniasis dans 12 fokontany sur les 20 ciblés par le « Projet pilote de traitement de masse par des médicaments anti-téniasis dans le district d'Antanifotsy », en collaboration avec la Division Cysticerose du SLMEN et le laboratoire d'Immunologie de l'Hopital Joseph Ravoahangy Andrianavalona (HJRA) avec l'appui financier de l'OMS (Tableau 2).

### III.2. Enquêtes malacologiques

Recherche de l'hôte intermédiaire de *Schistosoma* dans les points d'eaux fréquentés par la population des villages où la prévalence de la schistosomiase a été élevée dans le district de Morombe (projet PRBM)

### III.3. Autres activités

- Formation et remise à niveau des techniciens de laboratoire et aide techniciens sur les méthodes de diagnostic des schistosomiasés et géohelminthiasés suivant le protocole de l'OMS, dans le cadre de la réalisation de la cartographie de ces MTN. Ces techniciens et aide-laborantins étaient au nombre de 72 et provenaient de 38 districts sanitaires de 15 régions Alaotra Mangoro, Analamanga, Analanjirofo, Atsimo Andrefana, Atsinanana, Boeny, Bongolava, Betsiboka, Diana, Itasy, Melaky, Menabe, Sava, Sofia et Vakinankaratra
- Encadrement des étudiants en 4<sup>ème</sup> année de la Faculté de Médecine d'Antananarivo, dans le cadre de leur stage de santé publique
- Supervision de la campagne de Traitement de Masse en Médicament (TMM) anti-téniasis dans le district d'Antanifotsy

## IV. Résultats synthétiques annuels

Pour les enquêtes sur la cartographie des schistosomiasés et géohelminthiasés, le nombre d'enfants d'âge scolaire ayant participé était de 250 par district (Tableau 1).

Pour les enquêtes sur le téniasis dans le district d'Antanifotsy, 48 individus par fokontany ont participé (Tableau 2).

Tableau 1 : Enquête de cartographie

District	Prévalence des Schistosomiasés (%)		Prévalence des Géohelminthiases (%)
	S. haematobium	S. mansoni	
Miarinarivo	0,4	16,7	7,6
Soavinandriana	0	54,8	23,8
Tsiroanomandidy	0	28,8	2,8
Morombe	47,8	0	0,4
Sakaraha	22	74,4	6,8
Kandreho	44,4	38,8	0,8
Anjozorobe	0	0,8	31,2

Tableau 2 : Enquête sur les téniasis

Commune	Fokontany	Taenia Nombre (Prévalence)	S.mansoni Nombre (Prévalence)	Géohelminthiases Nombre (Prévalence)
Ambatolahy	Ambolavola	3 (6,3%)	0	14 (29,2%)
Ambohitompoina	Ambohitompoina Centre	0	0	5 (10,4%)
	Sahanamalona Bas	1 (2,1%)	0	20 (41,7%)
	Faravohitra	0	0	26 (54,2%)
	Ambatosira	0	0	5 (10,4%)
	Ambondrona	0	0	25 (52,1%)
	Antsahalava	Amorona	0	0
Ambohikambana		0	0	24 (50%)
Ambatondratsira		0	0	34 (70,8%)
Ibongamahasoa		0	0	24 (50%)
Soafiraisana		1 (2,1%)	1 (2,1%)	8 (16,7%)
Angadona Anosiroa		0	0	21 (43,8%)

## V. Mise en perspective

Les résultats obtenus permettent au programme de lutte contre les MTN de planifier, de prioriser, ainsi que de rationaliser les ressources pour le traitement médicamenteux périodique de masse qui est la politique nationale actuelle contre ces MTN. Ils leur permettent aussi d'étayer leurs activités de plaidoyer.

Les communautés exposées à un risque élevé aux schistosomiasés et géohelminthiasés sont ciblées pour le TMM contre ces helminthiasés, organisées par le Ministère de la Santé Publique. Celles exposées à un risque faible de schistosomiase et les cas positifs en téniasis vont bénéficier des traitements ciblés.

Les résultats permettent aussi de suivre et d'évaluer les impacts des activités de TMM.

**LC Peste****Laboratoire Central de la Peste : surveillance de la peste humaine**

Correspondant :  
**Minoarisoa RAJERISON**

Email : [mino@pasteur.mg](mailto:mino@pasteur.mg)  
Tél : **+261 20 22 412 72**

Date de rédaction  
19/01/2016

Responsables de l'activité

- **Jean Michel RAZAFIMAHATRATRA**, LCP/SLMEN/MSanP, [razafimichel@pasteur.mg](mailto:razafimichel@pasteur.mg)
- **Maherisoa RATSITORAHINA**, unité épidémiologie, [mahery@pasteur.mg](mailto:mahery@pasteur.mg)
- **Voahangy ANDRIANAIVOARIMANANA**, unité peste, [kekely@pasteur.mg](mailto:kekely@pasteur.mg)
- **Mamy RATSIMBA**, LCP/SLMEN/MSanP, [mamy@pasteur.mg](mailto:mamy@pasteur.mg)

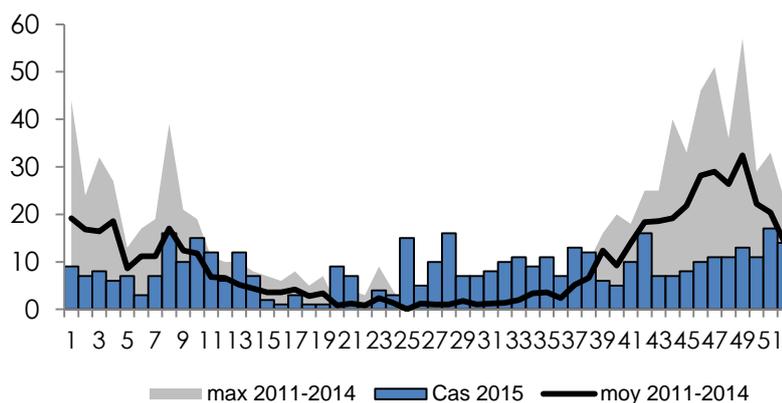
Mots clés : **Peste, humaine, Madagascar**

## I. Contexte & justification

La peste est endémique à Madagascar et reste encore un problème de santé publique préoccupant depuis son introduction sur les hautes terres en 1921. La surveillance de cette maladie transmissible, partie du programme national de lutte contre la peste (PNLP), est assurée par le laboratoire central de la peste (LCP) sous la supervision technique de l'unité peste de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) et s'inscrit plus largement dans la surveillance internationale prescrite par le Règlement Sanitaire International (RSI). Tous les cas suspects de peste observés dans les centres sanitaires périphériques doivent être prélevés et envoyés au LCP pour confirmation. Toutes les informations de la fiche de déclaration de cas de peste humaine sont saisies dans une base de données informatisée (Logiciel ACCESS) permettant de faire l'analyse de la situation épidémiologique de cette maladie à Madagascar et d'élaborer le bulletin Epidémiologique Hebdomadaire.

## II. Faits marquants de l'année

On observe une baisse de l'incidence de la peste par rapport à l'année dernière (304 cas soit 3,9 pour 100 000 habitants vs 5.3 pour 100 000 habitants en 2014), mais le taux de peste pulmonaire a connu une nette augmentation (29% vs 12% en 2014). Le taux de létalité global reste stable (24 %) mais élevé. Les objectifs du programme national (édition 2012) d'un taux de létalité due à la peste maintenu inférieur à 14% et une absence de peste pulmonaire, sont loin d'être atteints. La situation de l'année 2015 est présentée dans la figure ci-dessous.



**Figure 1** : Situation hebdomadaire de la peste humaine à Madagascar en 2015

### III. Investigation d'épidémies

Devant des situations particulières ou inhabituelles, bouffée épidémique, recrudescence, mortalité importante, peste pulmonaire, nouveau foyer..., des investigations ont été menées en fonction des moyens disponibles. Du 1<sup>er</sup> janvier au 31 décembre 2015, deux districts, Moramanga et Tsiroanomandidy, ont fait l'objet d'investigations épidémiologiques et/ou rodento-entomologiques.

#### III.1. Moramanga (27 au 31/08/15 et 5 au 10/10/15)

Une alerte téléphonique a été reçue au niveau central rapportant des décès et malades suspects de peste pulmonaire dans le fokontany (FKT) de Tsiatzompody de la commune rurale (CR) d'Ampasimpotsy Gara. Parmi ces cas, deux ont pu être testés avec le test rapide de détection d'Antigène F1 de la peste (TDRA), et se sont révélés positifs. Du fait de sa forte contagiosité, une épidémie de peste pulmonaire est particulièrement dangereuse dans des zones à forte concentration démographique et avec mouvement de la population important comme Moramanga. De plus, une notion de contact avec le public (lors du déplacement), augmentant le risque de contamination d'autres individus a été évoquée. Devant cette situation ainsi qu'à la demande d'appui exprimée par le SDSP de Moramanga, une mission d'investigation a été organisée après une analyse situationnelle faite par le Ministère de la Santé, elle avait pour objectifs : identifier la source de l'infection afin d'instaurer une réponse urgente appropriée et prévenir la survenue de nouveaux épisodes.

Il s'agit d'une épidémie de peste pulmonaire avec au total 14 cas déclarés dont quatre sont confirmés au LCP (2 séro-conversions et 2 par isolement de *Y. pestis*), 1 probable et 9 suspects cliniques. Le taux de létalité est de 71,4% (10/14). Le sex-ratio H/F parmi les cas est de 2,5 (10/4). L'âge médian est de 22,5 [15-80]. Les sujets jeunes âgés de 15 à 24 ans étaient les plus touchés et représentaient 57% (8/14) des cas. Selon l'enquête auprès de la famille des cas, tous les cas et décès (100%) ont présenté de la fièvre, de la douleur thoracique, des toux et de la dyspnée, 93% des crachats sanglants, 86% des frissons et 71% des céphalées.

Dans le cadre de l'investigation environnementale de cette alerte et pour vérifier si la bactérie *Y. pestis* circule au sein de la population de rongeurs, nous avons procédé à des séries de captures selon le protocole standard de l'Unité Peste-IPM. Une trace sérologique a été détectée chez un réservoir *R. rattus*, indiquant un contact préalable de cet individu avec *Y. pestis*. Aucune souche n'a pu être isolée sur les rats testés, par contre 10 sont positifs à la fois en PCR et TDR.

Les principales recommandations émises à l'issue de cette investigation sont :

- Arrêter complètement d'utilisation du deltaméthrine dans la riposte ;
- Intensifier la lutte contre les rats et les activités d'IEC en mettant l'accent sur les signes cliniques, la gratuité de la prise en charge et la prévention (hygiène de base) ;
- Promouvoir la surveillance de la population murine en impliquant les agents communautaires.

### III.2. Bemahatazana-Tsiroanomandidy (17 au 26/09/15)

La Commune Rurale de Bemahatazana du District de Tsiroanomandidy (dans le moyen-ouest) a été en flambé d'épidémie de peste bubonique depuis le 19 septembre 2015. Cette épidémie a persisté et s'est étalée sur plusieurs semaines entraînant des décès. Notons que la peste bubonique résulte d'une infection faisant suite à une piqûre de puce de rat infecté. La réussite du traitement par antibiothérapie est de 100% si administré à temps. La mesure de riposte visant essentiellement les puces des rats est importante pour un meilleur contrôle de l'épidémie. Vu la situation épidémique ainsi que la demande d'appui exprimée par les responsables locaux, une mission a été organisée dans l'objectif d'instaurer une réponse urgente appropriée et prévenir la survenue de nouveaux épisodes.

Des séries de désinsectisation, captures de rats et collecte de puces ont été réalisées. Pour la désinsectisation, la méthode utilisant les boîtes de Kartman a été adoptée. Les résultats de cette riposte sont donnés dans le tableau suivant.

Tableau 3 : Résultats de captures et indicateurs peste, Bemahatazana Tsiroanomandidy

Fokontany	Nombre toits enquêtés/ total de toits	Présence de cas de peste	Kartman	PL	Rats capturés	Puces de rat	
						Synopsyllus fonquerniei	Xenopsylla cheopis
Tsinjorano	117 / 154	Oui	100	100	57	1	109
Ampiadianombalahy	46 / 47	Non	46	46	22	0	30
Mangarivotra	44 / 44	Non	44	44	28	7	30
Ambatofotsy Est	60 / +200	Oui	0	60	30	1	23
Ambatofotsy Ferme	34 / +100	Oui	34	34	42	0	45
Betsifasika centre	18 / 18	Non	18	18	20	6	0
Betsifasika est	46 / 46	Oui	46	46	56	0	15
Betsifasika ouest	10 ext	Oui			4	25	0
<b>TOTAL</b>				358	259	40	252

PL : Piège Lumineux avec bougie

Des rats positifs en antigène F1 ont été détectés durant les missions et au laboratoire, l'indicateur de risque d'épidémie chez les vecteurs est supérieur au seuil d'alerte (taux de portage de *Y. pestis* sur les rats capturés 12%, Index cheopis >1). Des mesures en adéquation avec ces observations ont été prises pour éviter l'apparition des cas de peste humaine.

#### IV. Impacts & Perspectives

Ces interventions nous ont permis d'arrêter la transmission de ces deux épidémies, malgré les difficultés rencontrées sur le terrain. Des recommandations ont été formulées à partir de ces interventions, puis adressées aux autorités sanitaires.

**LHAE****Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement**

Correspondant : **Alexandra BASTARAUD** Email : [lhae@pasteur.mg](mailto:lhae@pasteur.mg) Date de rédaction : 05/01/2015  
Tél : **+261 20 22 412 72**

Responsables de l'activité

- **Alexandra BASTARAUD-CELESTIN**, chef de service, [abastaraud@pasteur.mg](mailto:abastaraud@pasteur.mg)

- **Noro RAVAONINDRINA**, adjoint au chef de service, [nravaoni@pasteur.mg](mailto:nravaoni@pasteur.mg)

Mots clés : **Sécurité alimentaire, environnement, contrôle sanitaire des eaux, pathogènes entériques**

## I. Contexte & justification

Le laboratoire d'hygiène des aliments et de l'environnement (LHAE) est un service de diagnostics en microbiologie et en chimie des eaux et des aliments. Reconnu laboratoire de référence par le Ministère de la Pêche et le Ministère de l'Élevage, il analyse les critères d'hygiène et de sécurité sur les produits halieutiques et sur l'eau des établissements agréés (convention ASH, Autorité Sanitaire Halieutique). Il est le seul laboratoire pour le contrôle sanitaire des eaux. Plateforme technique vouée au diagnostic des bactéries pathogènes majeures transmises par l'eau ou les aliments, il développe aussi des formations techniques en microbiologie et en qualité à l'endroit des laboratoires d'autocontrôle malagasy. Il apporte un soutien technique aux Organisations Non Gouvernementales, acteurs de l'eau pour une meilleure accessibilité à l'eau potable dans les zones enclavées de Madagascar.

## II. Faits marquants de l'année

Le volume d'activités du laboratoire est en augmentation de 20% par rapport à 2014. Les activités liées à l'eau représentent maintenant plus de la moitié du volume d'activité du LHAE.

*Le 1<sup>er</sup> semestre 2015* a été consacré à la mise en place et à la validation du dosage de l'iode urinaire (méthode modifiée en microplaque), grâce au concours du « réseau Equip » ("Ensuring the quality of urinary iodine procedures"). Cette méthode mise en place a permis de participer à l'Enquête Nationale sur l'Iode et le Sel à Madagascar (ENISM). Cette enquête transversale a été mise en œuvre depuis 2014 par l'Unité d'Epidémiologie de l'Institut Pasteur de Madagascar et le Ministère de la Santé Publique (Service de Nutrition), en collaboration avec l'Office National de la Nutrition (ONN) et avec l'appui financier et technique du Fonds des Nations Unies pour l'Enfance (UNICEF). L'ENISM a pour premier objectif de déterminer le statut en iode de la population malagasy par la mesure de la concentration d'iode urinaire (CIU). Ainsi, 1760 échantillons d'urine dans le cadre du programme de lutte contre les troubles dus à la carence en iode

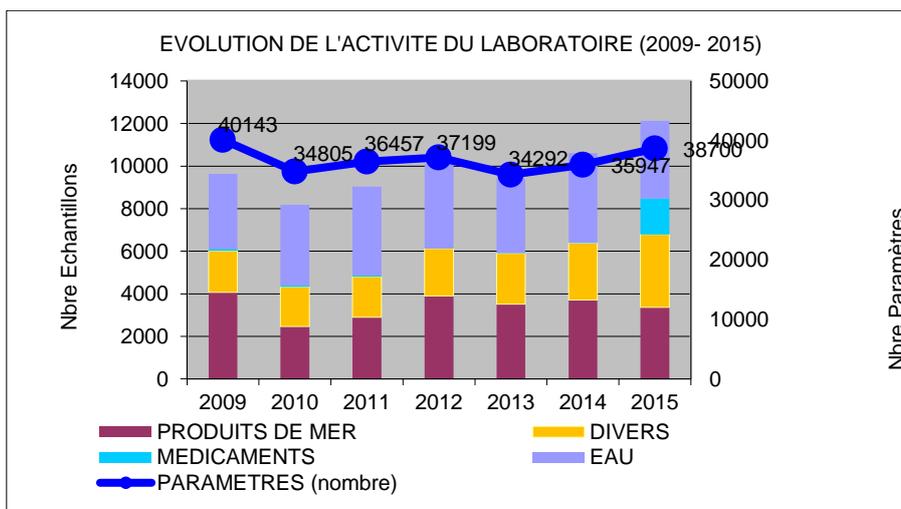
*En avril 2015*, le laboratoire a reçu un avis favorable pour l'obtention de fonds de l'Union Européenne pour le renforcement des capacités analytiques de Madagascar.

*En mai 2015*, la participation au X<sup>ème</sup> salon de la Foire Internationale de Madagascar a permis au laboratoire de lancer à destination des particuliers et ONG des offres ciblées en matière d'analyses microbiologiques et physico-chimiques des eaux.

En Novembre 2015, le LHAE a demandé et a obtenu 2 extensions de son accréditation COFRAC en LABGTA 59 (portée disponible sur [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr)). Ceci lui permet, notamment avec la VIDAS (Biomérieux) de raccourcir de manière significative les délais de détection des pathogènes *Salmonella* et *Listeria monocytogenes*.

En Novembre 2015, le plan national de surveillance des produits de la pêche a débuté pour l'année 2015-2016, notamment pour la recherche des *vibrio spp.*, mais aussi pour l'épidémiologie-surveillance des virus liés aux maladies des crevettes.

### III. Tableaux d'activité synthétique annuelle



Le LHAE a analysé plus de 12000 échantillons et mesuré 38700 paramètres en 2015. Le niveau d'activité reste soutenu et en terme de nombre d'échantillons pris en charge, 2015 est la meilleure année depuis 6 ans. La part des analyses réalisées sous convention ASH (produits de la mer) représente désormais 32% de l'activité (-3%).

#### IV. CNR Salmonella, Vibrio, Shigella

Dans le cadre de ses missions de CNR, le laboratoire a sérotypé 50 souches du genre *Salmonella* dont 16 provenaient d'isolats cliniques, transmis par le Centre de Biologie Clinique

**Tableau 4 : Les 10 principaux sérovars de Salmonella au CNR Salmonella, Vibrio, Shigella depuis 2008**

	2008 (N=108)	2009 (N=46)	2010 (N=11)	2011 (N=31)	2012 (N=30)	2013 (N=48)	2014 (N=102)	2015 (N=50)
1	Enteritidis (51)	Enteritidis (10)	Enteritidis (4)	Enteritidis (11)	Typhimurium (14)	Enteritidis (11)	Enteritidis (8)	Typhi (8)
2	Typhimurium (13)	Hvittingfos (4)	Typhi (4)	Typhimurium (10)	Enteritidis (7)	Essen (5)	Muenchen (7)	Anatum (4)
3	Saintpaul (10)	Give (4)	Typhimurium (1)	Senftenberg (4)	Hayindogo (2)	Typhimurium (4)	Essen (7)	Bardo (4)
4	Newport (7)	Anatum (3)	Newport (1)	Typhi (3)	Park roal (2)	Saintpaul (2)	Budapest (7)	Typhimurium (3)
5	Bardo (5)	Bukavu (2)	OMS,HMC,y ;1,5 (1)	Stratford (1)	Fareham (1)	Dublin (2)	Paratyphi A (5)	Essen (3)
6	Tananarive (5)	Hadar (2)		Hilingdon (1)	Oyonnax (1)	Anatum (2)	Virginia (5)	Dublin (3)
7	Muenster (2)	Typhi (2)		Saintpaul (1)	Holcomb (1)	Hayindogo (2)	Anatum (5)	Enteritidis (2)
8	Arizonae (2)	Sandiego (2)				Muenster (2)	Saintpaul (3)	Virginia (2)
9	Salamae (2)	Glostrup (2)				Newport (2)	Bardo (3)	Paratyphi A (1)
10	Aqua (2)	Hayindogo (2)				Budapest (2)	Typhi (2)	

Le nombre d'isolats de *Salmonella spp.* a diminué. Le sérotype Typhi est maintenant prédominant et représente près de 50% des isolats cliniques. Les isolats alimentaires sont en majorité des *Salmonella* non typhiques. Toutefois *S. enterica*. Paratyphi A (1) a été isolé sur de l'huile d'arachide. Les sources alimentaires le plus souvent mises en cause sont les produits végétaux (12 isolats) et les charcuteries (9 isolats).

Hormis les salmonelles, le LHAE a isolé 42 *Vibrio spp* dont *parahaemolyticus* (20) et *cholerae* (10), tous confirmés non entéropathogènes (confirmation par biologie moléculaire), essentiellement sur des produits de la pêche.

## V. Mise en perspective

Etant le seul laboratoire accrédité COFRAC sur le territoire, le LHAE reste toujours indispensable au management de la sécurité sanitaire des produits d'exportation. Pour promouvoir la sécurité sanitaire des aliments à Madagascar, il collabore à de nombreux programmes liés à la sécurité sanitaire des aliments et contribue à la surveillance et à la caractérisation des pathogènes entériques émergents et ré-émergents. Il souhaite aussi accompagner le renforcement des capacités analytiques du pays, en mettant en place une plate-forme dédiée au dosage des produits phytosanitaires et autres contaminants des produits alimentaires.

PRBM		Projet de Réhabilitation du Bas Mangoky	
Correspondant :	Vololomboahangy RAVAOALIMALALA	Email : <a href="mailto:andriv@pasteur.mg">andriv@pasteur.mg</a>	Date de rédaction 21/01/2016
		Tél : +261 20 22 412 72	Lieux des travaux
Date début :	24/09/2015	Date fin :	31/12/2015
		Durée (mois) :	3
Financements :	Fonds Africain de Développement ; Ministère de l'Agriculture		
Mots clés :	Schistosomiase, Géo helminthiases, prévalence		
			
			Budget total 10 475,40 €

## I. Contexte & justification

Le périmètre du Bas Mangoky l'un des plus grands et des plus performants périmètres irrigués de Madagascar, a été aménagé à partir des années 1960. Le réseau d'irrigation est alimenté par une prise d'eau gravitaire située à 20 kilomètres en amont du périmètre, dans le village de Bevoay (Commune rurale d'Ankatsakatsa Sud, district de Morombe, Région Sud-Ouest), qui capte une partie du débit du fleuve Mangoky. Le Projet de Réhabilitation du Bas Mangoky (PRBM), sous tutelle du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, intervient sur le périmètre depuis l'année 2001. De nombreuses activités structurelles (p.ex. réhabilitation des canaux d'irrigation) et non-structurelles (p.ex. appui au microcrédit) ont été réalisées. Lorsque le PRBM fut instruit en 1999, aucune étude d'impact sur l'environnement n'avait été réalisée. Le PRBM a donc souhaité réaliser une vérification environnementale en 2008, visant à examiner les impacts négatifs potentiels de ses activités depuis le début du Projet, et le cas échéant, à mettre en œuvre des mesures correctrices et/ou de bonification.

Aussi, des expertises ont été conduites dont une expertise en santé publique, pour l'analyse du profil sanitaire des communautés vivant dans ce périmètre, et l'évaluation des effets des actions du PRBM sur la composante santé de ces communautés. La bilharziose uro-génitale est toujours présente et mérite une étude plus approfondie de son étendue réelle actuelle.

## II. Objectifs

### II.1. Objectif principal

Mettre à disposition des pouvoirs publics, et en particulier du Ministère de la Santé, des données récentes et à jour sur la situation sanitaire des habitants de la zone du périmètre irrigué du Bas Mangoky.

Le cas échéant, les programmes actuels de lutte contre les bilharzioses, pourront inclure la zone du Bas Mangoky dans leurs zones cibles prioritaires.

### II.2. Objectifs spécifiques

Renforcer la capacité du service de santé du district et maintenir un net recul de la bilharziose dans la zone du périmètre.

### III. Méthodologie de l'étude

- L'étude s'est déroulée dans 5 villages environnant le périmètre de réhabilitation du Bas Mangoky. Ces sites ont été proposés par les responsables de la mission environnementale du PRBM et sont définis par un choix raisonné: 3 sites longeant la rivière Mangoky (Andranombilo, Ambalanomby, Analakely de la commune d'Ambahikily) et 2 sites à distance de cette rivière (Ankonatse et Ankirio)
- La population concernée par l'étude était les individus âgés de 5 ans et plus, résidant depuis plus de 6 mois, tirés au sort par famille et ayant donné leur consentement (ou pour lesquels les tuteurs des mineurs ont donné leur consentement) après information.
- Un échantillon de selles et un échantillon d'urines par individu ont été préparés pour la recherche d'œufs de *Schistosoma mansoni*, autres helminthes intestinaux et *Schistosoma haematobium*.
- Les médicaments pour le traitement des cas positifs de schistosomiasis et de géohelminthiases étaient transmis aux responsables des centres de santé de base.
- Une enquête malacologique a été réalisée pour la recherche des hôtes intermédiaires de *Schistosoma* dans les points d'eau fréquentés par la population dans les villages où la prévalence de la bilharziose était élevée.

### IV. Conclusion des résultats finaux

#### IV.1. Infection par les bilharzioses

Au total, 625 individus ont été tirés au sort pour participer à l'étude. 549 personnes consentantes ont été recrutées. 505 individus ont donné des échantillons de selles et/ou d'urines. 364 prélèvements de selles et 409 prélèvements d'urines ont été reçus.

La prévalence de l'hématurie à l'examen macroscopique des échantillons d'urines est de 10% (n=39).

La prévalence globale de la schistosomiose uro-génitale à *S. haematobium* est de 40% (n=163) et celle de la schistosomiose intestinale à *S. mansoni* est de 2% (n=8).

La prévalence de la schistosomiose uro-génitale dans les villages varie de 4 à 88%. Des prévalences élevées supérieures à 50% ont été observées dans les villages d'Analakely et d'Ankonatse. La forte infestation s'observait surtout dans la tranche d'âge 5-49 ans.

La prévalence de la schistosomiose intestinale est faible, elle varie de 1 à 10%. Les cas de schistosomiose intestinale sembleraient être des cas importés.

Les géohelminthiases dépistées étaient : l'ascaridiasis 0,8% (n=3), l'ankylostomiasis 0,3% (n=1). L'hymenolepiase a été retrouvée chez 5 individus soit une prévalence de 1%.

La charge parasitaire moyenne chez les positifs (n=163) pour *S. haematobium* est de 173 œufs pour 10 ml d'urines (o/10ml). 58% des cas positifs avaient de forte intensité d'infection (nombre d'œufs/10ml  $\geq$ 50). Cette forte intensité d'infection est aussi observée dans les tranches d'âge 5-14 ans et 15-49 ans.

La prospection malacologique a été réalisée dans les 2 villages où la prévalence des schistosomiasis était élevée : Analakely et Ankonatse. Le mollusque hôte intermédiaire de *S. haematobium*, le *Bulinus obtusispira* a été retrouvé dans des canaux secondaires du réseau de distribution d'eau de barrage alimentant les rizières et des canaux utilisés par la communauté pour la lessive, la toilette, les jeux... Les autres espèces retrouvées étaient: *Melanoides tuberculata*, *Cleopatra madagascariensis* et *Lymnea Natalensis hovarum*.

Les tests d'émission cercarienne de ces *B. obtusispira*, effectué au laboratoire quelques jours après la mission se sont révélés négatifs.

Les trois éléments, prévalence élevée, forte intensité d'infection et présence de l'hôte intermédiaire, sont en faveur d'une forte transmission en permanence ou d'une manière périodique de cette parasitose dans la zone d'étude. Aussi des mesures de prévention devront être prises pour limiter l'extension de la maladie et éviter les complications graves.

SurvArbo		Surveillance des arboviroses à Madagascar	
Correspondant :	Email : <a href="mailto:cfilippone@pasteur.fr">cfilippone@pasteur.fr</a>	Date de rédaction	
<b>Claudia FILIPPONE</b>	Tél : <b>+261 20 22 412 72</b>	25/02/2016	
Co-investigateur	IPM	Lieux des travaux	
- <b>Jean-Michel HERAUD</b> , unité de virologie, <a href="mailto:jmheraud@pasteur.mg">jmheraud@pasteur.mg</a>		Madagascar	
- <b>Laurence RANDRIANASOLO</b> , unité d'épidémiologie, <a href="mailto:laurence@pasteur.mg">laurence@pasteur.mg</a>		Toamasina,	
Co-investigateurs hors IPM		Mahajanga,	
<b>Ministère de la Santé Publique, Madagascar</b>		Antsiranana,	
		Taolagnaro	
Date début : <b>1/01/2015</b>	Date fin : <b>31/12/2015</b>	Durée (mois) : <b>12</b>	Budget total
Financements :			7 500 \$
<b>Institut Pasteur de Madagascar</b>			
Mots clés : <b>Chikungunya, Dengue, Arbovirus, Fièvre de la Vallée de Rift, Surveillance</b>			

## I. Contexte & justification

Depuis 2007, le Laboratoire National de Référence (LNR) des arboviroses, en collaboration avec l'Unité d'Epidémiologie et la Direction de la Veille Sanitaire et de la Surveillance Epidémiologique (DVSSE) a participé au fonctionnement du réseau sentinelle de surveillance des fièvres. Cette surveillance porte non seulement sur les arboviroses (syndrome dengue-like), mais aussi d'autres causes de fièvres dont le paludisme et la grippe. Ce projet permet un suivi en temps réel de l'évolution des causes de fièvres dans 33 sites sentinelles. Au sein de ce réseau, 4 sites, Toamasina, Mahajanga, Antsiranana et Taolagnaro sont aussi des sites sentinelles biologiques qui sont engagés à envoyer hebdomadairement au LNR des prélèvements de patients suspects d'arboviroses au laboratoire de Virologie.

## II. Objectifs

La surveillance biologique est complémentaire à la surveillance clinique des arboviroses. Elle permet d'une part de confirmer une infection par un arbovirus chez les cas suspects au cours d'une augmentation d'incidence saisonnière ou épidémique, de disposer d'un système d'alerte précoce de situation épidémique, d'attester la réalité d'une épidémie et d'en confirmer l'origine afin d'assurer une riposte rapide et adaptée. Elle permet d'autre part, pendant la période inter-épidémique, de confirmer ou non la circulation d'arbovirus (passage à l'endémicité).

## III. Méthodes

Chaque semaine, les sites sentinelles biologiques prélèvent au maximum 5 patients présentant les critères cliniques d'une arbovirose ; les prélèvements sont alors acheminés au LNR. Par ailleurs, d'autres sites, non biologiques, du réseau sentinelle, envoient des échantillons pour le diagnostic.

Les résultats sont transmis aux sites sentinelles, à l'unité d'épidémiologie de l'IPM et à la DVSSE.

## IV. Résultats et discussion

En 2015, le LNR a reçu 161 prélèvements dont 134 envoyés par les sites sentinelles biologiques (Tableau). Cela reste encore très en dessous du nombre maximum attendu (1040). La répartition des prélèvements par site est très hétérogène puisque 65% et 14% proviennent respectivement du site sentinelle de Toamasina et d'Antsiranana. Le site sentinelle de Taolagnaro est resté inactif en surveillance biologique. Le problème de transport des échantillons reste la principale raison de cette inactivité. Pour cette raison, nous avons décidé de l'exclure à partir de l'année 2016.

Des preuves sérologiques d'infection (réactivité IgM) par le virus de la Dengue ont été mises en évidence à Toamasina pendant les semaines 8, 9 et 33. Des preuves sérologiques d'infection par le virus Chikungunya ont été détectées à Toamasina pendant les semaines 16, 33 et 47. Des preuves sérologiques d'infection par le virus West-Nile ont été détectées respectivement à Morondava et Moramanga pendant les semaines 33 et 34. Ces cas n'ont pas pu être confirmés compte tenu d'une absence de suivi des patients.

Le LNR a reçu aussi, au cours de l'année 2015, 17 prélèvements provenant d'autres centres hors de l'activité de surveillance dans les sites sentinelles (e.g. Centre Biologie Clinique de l'Institut Pasteur de Madagascar ; CHU de Befelatanana, Antananarivo). Au niveau régional, le LNR a reçu 38 prélèvements en provenance de l'Union des Comores, pendant une épidémie Dengue-like. Aucun arbovirus n'a été détecté suite aux analyses effectuées.

**Tableau 1 : Nombre des sérums reçus au LNR du 1er janvier au 31 décembre 2015.**

Sites	Sites biologiques				Autres sites				
	Antsiranana	Mahajanga	Taolagnaro	Toamasina	Farafangana	Maevatanana	Moramanga	Morondava	Nosy Be
Total	23	7	0	104	6	5	12	1	3

## V. Impact

Les données de la surveillance des Arboviroses à Madagascar permettent de mieux comprendre leur importance et de mettre en place une riposte adaptée en cas de mise en évidence d'une circulation d'arbovirus. Cependant le très faible nombre d'échantillons reçus de la part de la majorité des sites biologiques rend cette surveillance peu efficace pour détecter rapidement la circulation d'Arbovirus. Des efforts devront être réalisés en vue de la préparation à une émergence possible du virus Zika à Madagascar.

## VI. Conclusion

La surveillance des arboviroses à Madagascar est fonctionnelle. Le nombre moyen d'échantillons attendus fixé à 5 par semaine n'a pas été atteint. Le nombre d'échantillon a varié entre 0 et 7 selon les périodes. Il peut refléter la situation réelle en termes de circulation d'arbovirus responsables d'une manifestation fébrile. Malgré la baisse du nombre de prélèvements reçus par rapport aux années précédentes, la surveillance a permis d'observer des preuves sérologiques d'infection de Dengue, et de Chikungunya dans un site biologique (Toamasina) et de West Nile dans deux autres sites sentinelles (Morondava, Moramanga). Un meilleur suivi doit être envisagé pour permettre une confirmation d'infection.

SurGIR		Surveillance de la grippe et des infections respiratoires à Madagascar	
Correspondant :	Email : <a href="mailto:jmheraud@pasteur.mg">jmheraud@pasteur.mg</a>	Date de rédaction	
<b>Jean-Michel HERAUD</b>	Tél : <b>+261 20 22 412 72</b>	04/02/2016	
Co-investigateur	IPM	Lieux des travaux	
- <b>Julia GUILLEBAUD</b> , unité de virologie, <a href="mailto:gjulia@pasteur.mg">gjulia@pasteur.mg</a>		Madagascar	
- <b>Norosoa RAZANAJATOVO</b> , unité de virologie, <a href="mailto:norosoa@pasteur.mg">norosoa@pasteur.mg</a>		Budget total	
Co-investigateurs hors IPM		1 642 755.00\$	
<b>Ministère de la Santé Publique, Madagascar</b>			
Date début : <b>1/09/2013</b>	Date fin : <b>31/08/2018</b>	Durée (mois) : <b>60</b>	
Financements :			
<b>CDC Atlanta, US. CoAg n°U51/IP000812</b>			
Mots clés : <b>Grippe, ILI, Surveillance Virologique</b>			

## I. Contexte & justification

Depuis 1978, le laboratoire de la grippe de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) est reconnu par l'organisation mondiale de la santé (OMS) et le ministère de la santé publique de Madagascar, comme centre national de référence pour la grippe (CNRG). En 2009, l'IPM a signé un accord de collaboration avec le CDC d'Atlanta, renouvelé en 2013. Ce nouveau projet intitulé « Appui à la surveillance de la grippe saisonnière et pandémique à Madagascar » soutient les capacités de surveillance et de diagnostic des infections respiratoires dues à la grippe mais aussi aux autres virus respiratoires à Madagascar.

Le poids des infections respiratoires aiguës sévères en termes de morbidité et de mortalité a récemment été documenté à travers le projet SDRA (Surveillance des Syndromes de Détresse Respiratoire Aigüe ou SARI) à Madagascar. On a pu en déduire une incidence élevée des SARI au niveau de la population malgache surtout chez les enfants âgés de moins de 5 ans. De plus, le pourcentage de SARI associé à un agent respiratoire était de l'ordre de 83%. Afin de suivre en temps réel la circulation des agents respiratoires et d'estimer la charge de morbidité causé par certains virus respiratoires importants, il est nécessaire de maintenir la surveillance des infections respiratoires aiguës au niveau hospitalier.

## II. Objectifs

Le projet a pour but d'améliorer la surveillance de la grippe saisonnière et pandémique afin d'informer régulièrement le réseau mondial de surveillance de la grippe sur les souches circulant à Madagascar. Il permet aussi de détecter rapidement toute nouvelle souche grippale pouvant être responsable d'épidémies importantes. L'objectif principal de la surveillance au niveau hospitalier est de déterminer les agents étiologiques responsables des SARI et de détecter rapidement toute nouvelle souche capable de provoquer une infection sévère voire mortelle.

### III. Méthodes

A ce jour, le système de surveillance sentinelle de la grippe se compose de 34 centres de santé de base (CSB) impliqués dans la surveillance des infections pseudo-grippales (ILI) et de 17 hôpitaux assurant la surveillance des infections respiratoires aiguës sévères hospitalisées (SARI). Onze sites envoient chaque semaine au CNRG jusqu'à 5 prélèvements respiratoires (gorge, nasal ou nasopharyngé) provenant de patients présentant une ILI pour recherche d'infection par un virus grippal. Deux envois concernant 63 souches et/ou prélèvements initiaux ont été organisés vers le Centre Collaborateur OMS de Londres (The Francis Crick Institute, Mill Hill Laboratory).

La surveillance biologique des SARI est effectuée au niveau d'un centre hospitalier à Antananarivo (Centre Hospitalier de Soavinandriana, Cenhosoa), au niveau de deux services d'hospitalisation. Après consentement, les patients répondant à la définition des cas de SARI et nécessitant une hospitalisation sont recrutés. Suite à un interrogatoire, les données cliniques et épidémiologiques sont recueillies. Des prélèvements nasopharyngés et/ou de gorge sont effectués et testés pour la présence de quatre virus respiratoires (grippe A et B, Virus respiratoire syncytial et rhinovirus) au CNR Grippe de l'Institut Pasteur de Madagascar. Les prélèvements sont également analysés en grippe A/H7N9 et MERS-coronavirus (MERS-CoV) depuis l'émergence de ces nouveaux virus potentiellement épidémiques.

### IV. Résultats & discussion

#### IV.1. Surveillance des ILI

En 2015 (du 1<sup>er</sup> janvier au 31 décembre), le CNRG a reçu 1 510 prélèvements de patients présentant un syndrome pseudo-grippal. Une non-conformité a été enregistrée pour 6,6% (99/1510) de ces prélèvements (réception à température ambiante et/ou délai supérieur à 8 jours entre la date de prélèvement et la réception au laboratoire) qui ont tout de même été traités. L'essentiel (78,5%) des prélèvements reçus au CNRG provenait du réseau sentinelle biologique de surveillance des fièvres ; les autres prélèvements étaient envoyés par les autres sites sentinelles. Sur l'ensemble de Madagascar, le pourcentage de positivité pour la grippe était de 29,7% (448/1510), mais variait selon les sites.

En 2015, les virus grippaux ont été détectés tout au long de l'année. A l'échelle du territoire malagasy, l'activité grippale se caractérisait par une forte circulation en début d'année, avec une co-circulation des virus A/H3 et B (lignée Yamagata). Une seconde période de circulation d'intensité plus faible a été observée durant le second semestre caractérisé par la circulation majoritaire du virus de type A/H1N1pdm09 (Figure 1).

Sur les 63 souches et/ou prélèvements initiaux envoyés au CC OMS de Londres pour caractérisation, les résultats étaient disponibles au moment de ce rapport pour 37 (envoi de Juin 2015). Les souches Malagasy H1N1pdm09 (n=5) étaient antigéniquement proches de la souche vaccinale recommandées A/California/7/2009. Les souches de type B (n=19) étaient toutes de la lignée Yamagata et antigéniquement proches de la souche vaccinale B/Phuket/3073/2013. D'un point de vue génétique les virus Malagasy de type B faisaient partie majoritairement du clade 3 (groupe génétique de la souche vaccinale). La caractérisation antigénique des virus H3N2 par le test d'inhibition de l'hémagglutination continue de poser des difficultés au niveau mondial et les souches Malagasy (n=13) présentaient les mêmes difficultés. Elles appartenaient au groupe génétique 3C.3a qui a émergé en 2014, mais remplacé rapidement dans la majeure partie du monde par le groupe 3C.2a.

## IV.2. Surveillance des SARI

Entre le 1<sup>er</sup> janvier et le 31 Décembre 2015, 294 patients hospitalisés au Cenhosoa répondant à la définition de cas de SARI ont été inclus. Deux autres prélèvements provenant de patients hospitalisés dans deux centres hospitaliers de la Commune Urbaine d'Antananarivo sont également parvenus au CNRG. Le sexe ratio homme/femme était de 1,7 (186/109, 1 non renseigné). Les enfants âgés de 5 ans et moins représentaient 45% (134/296) des inclusions, tandis que les personnes âgées de plus de 65 ans représentaient 16% (46/296) des patients. La médiane de l'âge était de 18 ans, allant de 1 jour de vie à 88 ans.

Au moins un virus respiratoire a été identifié chez 27% (81/296) des patients (Figure 2) ; parmi eux, 90% (73/81) présentaient une mono-infection. Au total, 34 virus grippaux, 42 virus respiratoires syncytiaux et 11 rhinovirus ont été détectés. Aucun cas d'infection par un virus grippal de type A/H7N9 ou par le MERS-CoV n'a été mis en évidence.

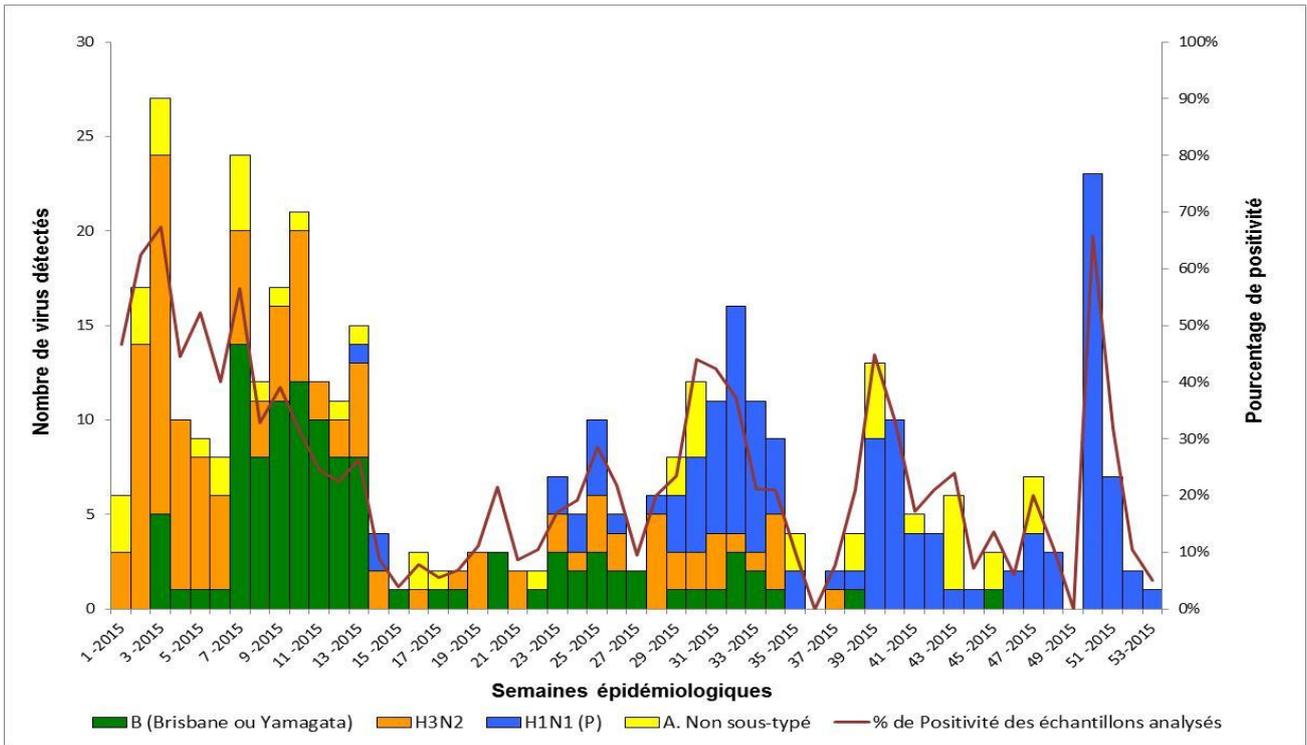
## V. Conclusion

La surveillance de la grippe saisonnière à Madagascar, reposant sur 34 sites sentinelles, permet de suivre la situation virologique et épidémiologique de la grippe. Les données accumulées depuis plusieurs années nous ont permis d'analyser la saisonnalité de la grippe à Antananarivo (1), mais les facteurs déterminant la circulation des virus grippaux dans la capitale Malagasy demeurent encore aujourd'hui inexpliqués. La surveillance des SARI est un outil très important permettant de suivre la tendance de circulation des virus respiratoires à potentiel épidémique au niveau hospitalier et de mieux maîtriser la prise en charge des patients infectés. Nous espérons la participation toujours active du site sentinelle hospitalier pour cette année encore. Le cumul des informations nous permettra ainsi d'estimer assez précisément le poids de la grippe et des autres infections respiratoires sévères non seulement en milieu hospitalier mais également à Madagascar.

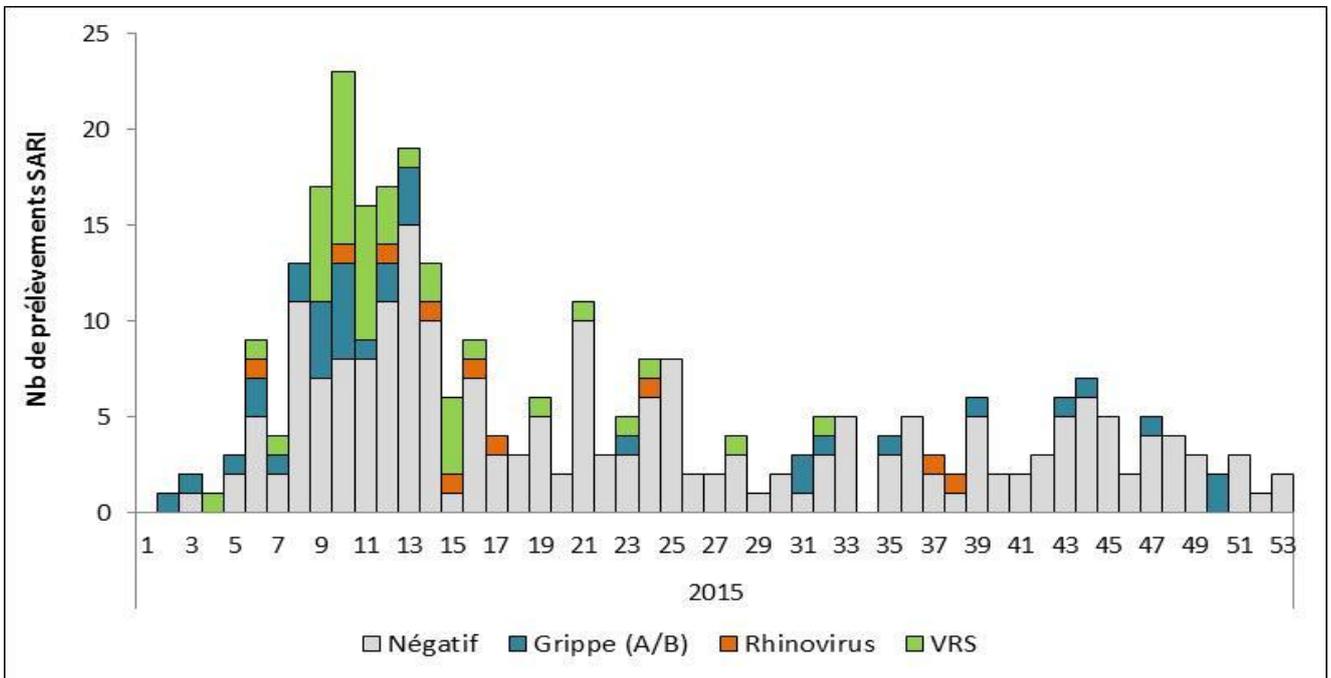
## VI. Impact

Ces données recueillies tout au long de l'année permettent de suivre les tendances au niveau de la circulation des virus grippaux à Madagascar. En outre, cette surveillance des ILI entre dans le cadre du « *Global Influenza Program* » mis en place par l'OMS ayant pour but la caractérisation antigénique et moléculaire des souches circulant dans le monde pour mettre au point chaque année la meilleure composition vaccinale.

Les données recueillies dans le cadre de la surveillance des cas sévères permettent d'estimer l'importance des virus associés aux SARI et d'évaluer l'intérêt relatif des stratégies destinées à réduire la morbidité et la mortalité liées à ces infections (ex. vaccination). En effet, ces données serviront à mieux informer les politiques de santé publique en matière de gestion des SARI, de prévention et de contrôle à Madagascar.



**Figure 1 : Résultats hebdomadaires de la surveillance biologique des syndromes pseudo-grippaux à Madagascar en 2015**



**Figure 2 : Résultats hebdomadaires de la surveillance virologique des SARI à Antananarivo, 2015**

## VII. Publications

- Alonso WJ, **Guillebaud J**, Viboud C, **Razanajatovo NH**, Orelle A, Zhou SZ, **Randrianasolo L**, and **Heraud JM**. Influenza seasonality in Madagascar: the mysterious African free-runner. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. Volume 9, Issue 3, pages 101–109, May 2015
- Caini S, Huang SQ, Ciblak MA, Kuszniarz G, Owen R, Wangchuk S, Henriques CMP, Njouom R, Fasce RA, Yu H, Feng L, Zambon JM, Clara AW, Kosasih H, Puzelli S, Kadjo HA, Emukule G, **Heraud JM**, Ang LW, Venter M, Mironenko A, Brammer L, Quynh Mai LT, Schellevis F, Plotkin S, Paget J, on behalf of the Global Influenza B Study. Epidemiological and virological characteristics of influenza B\*: results of the Global Influenza B Study. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. 9(Suppl. 1), 3–12.
- \*Including Guillebaud J, and Razanajatovo NH
- McMorro ML, Wemakoy EO, Tshilobo JK, Emukule GO, Mott JA, Njuguna H, Waiboci L, **Heraud JM**, **Rajatonirina S**, **Razanajatovo NH**, Chilombe M, Everett D, Heyderman RS, Barakat A, Nyatanyi T, Rukelibuga J, Cohen AL, Cohen C, Tempia S, Thomas J, Venter M, Mwakapeje E, Mponela M, Lutwama J, Duque J, Lafond K, Nzussouo NT, Williams T, and Widdowson MA. Severe acute respiratory illness deaths in Sub-Saharan Africa and the role of influenza: a case-series from 8 countries. *J Infect Dis*. 2015;212:853–60

SurvPolio PFA		Surveillance des paralysies flasques aiguës et de la poliomyélite à Madagascar	
Correspondant :	Email : <a href="mailto:richter@pasteur.mg">richter@pasteur.mg</a>	Date de rédaction	
<b>Richter RAZAFINDRATSIMANDRESY</b>	Tél : <b>+261 20 22 412 72</b>	02/03/2016	
Co-investigateur	IPM	Lieux des travaux	
<b>Jean-Michel HERAUD</b> , unité de virologie, <a href="mailto:jmheraud@pasteur.mg">jmheraud@pasteur.mg</a>		Tous les districts de Madagascar	
Co-investigateurs	hors	Budget total	
<b>Service de vaccination, Antananarivo, Madagascar</b>	IPM	28 964 \$	
Date début : <b>1997</b>	Date fin : Activité continue		
Financements :			
<b>Organisation Mondiale de la Santé (renouvellement annuel)</b>			
Mots clés : <b>Surveillance, poliovirus, PFA</b>			

## I. Contexte & justifications

La surveillance des paralysies flasques aiguës (PFA) et de la poliomyélite entre dans le cadre des objectifs de l'OMS pour l'éradication de la poliomyélite. Le LNR pour la poliomyélite de l'IPM est un Centre de Référence OMS Inter-Pays. Il assure le diagnostic d'infection par les poliovirus (PV) des cas de PFA détectés sur l'île Maurice, aux Seychelles, dans l'Union des Comores et à Madagascar. Cette surveillance se justifie de plus par l'émergence potentielle de virus dérivés de poliovirus vaccinaux (VDPV), du fait de l'utilisation d'un vaccin oral associé à une couverture vaccinale insuffisante.

## II. Objectifs (au niveau du laboratoire)

- Maintenir les techniques de diagnostic et d'isolement selon les standards de l'OMS,
- Assurer un rendu rapide des résultats ( $\leq 14$  jours),
- Caractériser génétiquement d'éventuels poliovirus qui seraient isolés,
- Participer aux contrôles annuels de qualité (isolements des poliovirus sur cellules et détection virale par la PCR en temps réel).

## III. Résultats synthétiques annuels

En 2015, le laboratoire a analysé 1 376 échantillons de selles issus de 542 cas de PFA et leurs contacts. Ils proviennent de l'île Maurice (6 cas), de l'Union des Comores (1 cas) et de Madagascar (535 cas) (Tableau I). Les Seychelles n'ont pas notifié des cas pendant l'année 2015. Pour Madagascar, 40 cas n'ont pas eu de 2ème prélèvement.

Aucune selle venant de l'Union des Comores n'a été trouvée positive en isolement. Par contre, 2 virus non entérovirus (NEV) ont été détectés dans les selles venant de l'île Maurice. A Madagascar, 254 prélèvements dont 99 cas de PFA ont permis d'isoler des virus (Tableau I).

En termes de performance de la surveillance, nous observons une baisse régulière depuis 2012 du pourcentage d'échantillons reçus au laboratoire dans les 3 jours après

la collecte du prélèvement, ainsi qu'une diminution du nombre de prélèvements arrivant dans les bonnes conditions (Tableau II). Ceci peut s'expliquer dans certains cas par des difficultés d'acheminement des prélèvements vers le laboratoire.

A partir de l'année 2015, pour un cas, il faut prélever 2 échantillons des enfants sains en contact avec ce cas. Il est donc évident que le taux d'isolement d'ENPV soit si faible (en dessous de 10%, seuil attendu). Il est annoté que 106 des districts sanitaires à Madagascar (94,6%) sur les 112 ont signalé au moins un cas. Six districts restent silencieux.

**Tableau 1 : Répartition des cas de PFA et des souches isolées par pays en 2015**

Pays	Cas	Selles	Contacts	Cas et selles positifs (isolement sur cellules L20B)	Types (Différenciation intratypique)
Union des Comores	1	2	0	0	0
Madagascar	535	1029	333	99 cas / 254 selles	1 NEV ; 3 ENPV ; 10 SL-2 ; 22 VDPV-1 ; 70 SL-1 ; 70 SL-3 ; 69 PV mixtures
Maurice	6	12	0	1 cas / 2 selles	2 NEV
Seychelles	0	0		0	0

ENPV: Entérovirus non polio ; NEV : Non entérovirus ; PV Poliovirus ; SL : Sabin-like ; VDPV-1 : Virus dérivés de poliovirus de type 1

**Tableau 2 : Performance de la surveillance des PFA à Madagascar (2012-2015)**

Critères	Performance attendue	2012	2013	2014	2015
Nombre de cas de PFA	176	329	402	442	535
Nombre d'échantillons analysés	352	625	800	849	1062
Echantillons adéquats	≥ 80%	92%	89%	87%	67%
Réception au laboratoire dans un délai ≤ 3 jours	≥ 90%	54%	53%	55%	42%
Echantillons reçus en bonnes conditions <sup>†</sup>	≥ 90%	76%	80%	88%	63%
Rendu des résultats dans un délai ≤ 14 jours	≥ 80%	89%	87%	92%	92%
Entérovirus non polio isolés	≥ 10%	10%	10%	10%	7%
Poliovirus isolés	-	6*	1**	14** *	250
Envoi des souches de poliovirus ≤ 7 jours vers le laboratoire régional	≥ 90%	N/A	N/A	3	N/A
Résultat "Proficiency test" isolement	≥ 90%	100%		NA	100%

<sup>†</sup>Température ≤ + 8°C et absence de fuite de conteneur

\*Six PV3 vaccinaux : 1 d'Antananarivo Renivohitra et 1 d'Antananarivo Avaradrano (Antananarivo), 2 de Fianarantsoa I et 2 d'Ampanihy.

\*\* Un PV1 vaccinal de district de Tsihombe.

\*\*\* Quatre PV2 vaccinaux (2 de Fianarantsoa, 2 de Mitsinjo) ; 5 VDPV1 d'Analalava ; 4 PV1 vaccinaux (2 d'Analalava, 2 d'Antsirabe) et 1 PV3 vaccinal d'Antsirabe

En 2015, la surveillance des cas de PFA menée par le LNR à l'unité de virologie de l'IPM a permis d'identifier 11 cas de PFA dus aux virus dérivés de poliovirus vaccinaux (VDPV) de type 1. Ces virus ont été détectés dans 6 régions du territoire national notamment Boeny, Menabe, Vatovavy Fitovinany, Anosy, Androy et Atsimo andrefana. (Tableau III)

Des investigations en collaboration avec la Direction de programme élargi de la vaccination (DPEV) du Ministère de la Santé Publique et l'OMS ont été menées pour évaluer la circulation de ces virus. Ces investigations ont permis de collecter plus de 1 100 prélèvements auprès d'enfants sains âgés de 0 à 15 ans. L'analyse de ces prélèvements ont permis de détecter 11 VDPV- 1. Ceci démontre que ces VDPVs ont circulé dans la communauté. (Tableau IV)

Tableau 3 : Caractéristiques des cas de PFA à VDPV isolés en 2015

Cas de PFA	Districts	Régions	Date de début de paralysie	Nombre de mutations (nt)	Types	Observation
MAD-FIA-NOS-15-015	Nosy varika	Vatovavy fitovinany	31 Jan 2015	35	aVDPV-1	-
MAD-TOL-TSI-15-154	Tsihombe	Androy	22 Avr 2015	24	cVDPV-1	-
MAD-TOL-TSI-15-171	Tsihombe	Androy	25 Avr 2015	27	cVDPV-1	-
MAD-TOL-TSI-15-155	Tsihombe	Androy	28 Avr 2015	25	cVDPV-1	-
MAD-TOL-TSI-15-153	Tsihombe	Androy	28 Avr 2015	29	cVDPV-1	-
MAD-TOL-BEL-15-164	Belo sur Tsiribihina	Menabe	03 Mai 2015	27	cVDPV-1	-
MAD-TOL-AMB-15-185	Amboasary	Anosy	13 Mai 2015	27	cVDPV-1	Enfant >5 ans
MAD-TOL-ABV-15-193	Amboasary	Anosy	25 Mai 2015	23	cVDPV-1	Enfant >5 ans; vivant à Amboasary
MAD-MAH-MAH-15-190	Mahajanga	Boeny	29 Mai 2015	22	cVDPV-1	-
MAD-MAH-MAH-15-221	Mahajanga	Boeny	07 Juil 2015	21	cVDPV-1	-
MAD-TOL-SAK-15-303C	Sakaraha	Sud-ouest	22 Aug 2015	25	cVDPV-1	Contact d'un enfant avec une PFA

**Tableau 4 : Nombre de selles collectées dans la communauté au cours de l'épidémie à VDPV-1 en 2015**

Districts	Régions	Selles collectées dans la communauté	Résultats
Nosy varika	Vatovavy fitovinany	187	57 ENPV
Tsihombe	Androy	173	51 ENPV ; 6 VDPV-1 et 1 NEV
Belo sur Tsiribihina	Menabe	109	22 ENPV ; 4 SL-2 ; 4 VDPV-1 et 1 SL-3
Amboasary	Anosy	189	5 ENPV ; 1 SL-2 et 1 VDPV-1
Mahajanga	Boeny	226	52 ENPV ; 8 SL-3 ; 5 SL-1 ; 3 SL-2 et 3 SL-1+3
Sakaraha	Sud-ouest	287	En cours d'analyse

ENPV: Entérovirus non polio ; NEV : Non entérovirus ; NSL : Non Sabin-like ; PV Poliovirus ; SL : Sabin-like ; VDPV : Virus dérivés de poliovirus

La découverte des virus VDPV-1 à Madagascar pourrait retarder la déclaration de la certification du continent africain polio « free ». Ainsi, pour renforcer la surveillance, Madagascar a été choisi pour mettre en place la surveillance des polios dans l'environnement (rechercher les PV dans les eaux usées).

Dans ce cadre, la mise en place de cette surveillance environnementale a été initiée suite à la visite des Drs O. Diop (OMS Genève, GPEI) et N Gumede-Moeletsi (OMS AFRO). Trois districts ont été sélectionnés : Toliara, Antananarivo Renivohitra et Mahajanga. La fréquence des collectes des échantillons se font toutes les 2 semaines. De octobre à décembre 2015, les sites dans les districts de Toliara et Antananarivo Renivohitra ont envoyé des prélèvements et des PV vaccinaux ont pu être isolés.

#### IV. Conclusion

La surveillance des PFA à Madagascar est fonctionnelle. Des améliorations doivent cependant être apportées concernant l'acheminement des prélèvements au laboratoire pour atteindre les objectifs de performance définis par l'OMS. Une épidémie des poliovirus vaccinaux mutés (VDPV) de type 1 a été constatée à Madagascar en 2015, ce qui nous a amené à faire des missions d'investigations sur terrain. Ces investigations nous ont permis d'avoir plus de 1 100 prélèvements d'enfants sains. Les analyses de ces prélèvements ont démontré que les VDPV circulaient dans la communauté.

En 2016, nous achèverons l'isolement et la caractérisation de ces prélèvements d'enquêtes. Les analyses pour avoir les séquences complètes de ces virus isolés sont en cours.

Depuis Octobre 2015, la surveillance de la circulation des PV dans l'environnement par le LNR polio est opérationnelle.

#### V. Productions scientifiques

##### V.1. Communications orales ou affichées

- **Razafindratsimandresy R, Rabemanantsoa S, Andriamamonjy S, Heraud JM.** VDPV Outbreaks in Madagascar. Regional workshop for vaccine preventable disease laboratory networks: 26-31 October 2015; Johannesburg – South Africa

SurvRage		Surveillance de la rage à Madagascar	
Correspondant :	Email :	<a href="mailto:soafy@pasteur.mg">soafy@pasteur.mg</a>	Date de rédaction
<b>Soa Fy Andriamandimby</b>	Tél :	<b>+261 20 22 412 72</b>	04/02/2016
Co-investigateur		IPM	Lieux des travaux
- <b>Jean-Michel HERAUD</b> , unité de virologie, <a href="mailto:jmheraud@pasteur.mg">jmheraud@pasteur.mg</a>			Madagascar
Co-investigateurs hors IPM			Budget total
- <b>Ministère de la Santé Publique, Madagascar</b>			7 500 €
- <b>Direction des Services Vétérinaires, Madagascar</b>			
Date début : <b>01/01/2015</b>	Date fin : <b>31/12/2015</b>	Durée (mois) : <b>12</b>	
Financements :			
<b>Institut Pasteur de Madagascar</b>			
Mots clés : <b>Rage, Diagnostic</b>			

## I. Contexte & justification

La rage est endémique à Madagascar et est essentiellement de type canin. La surveillance biologique de la rage à Madagascar est passive et supportée financièrement par l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) et le Ministère de la Santé Publique. Elle consiste en le diagnostic du virus de la rage dans les échantillons reçus au laboratoire de référence (LNR) pour la rage. Pour les animaux, le laboratoire reçoit généralement des têtes et effectue l'extraction d'un morceau de cerveau. Pour les cas humains, il s'agit d'une biopsie de peau prélevée au niveau de la nuque. Le diagnostic de la rage est pris en charge totalement par l'IPM et ce service est assuré à titre gratuit pour la population malagasy.

## II. Résultats synthétiques annuels

En 2015, le LNR a reçu 61 prélèvements, accusant ainsi une baisse de 31% par rapport à l'année 2014 (n=88) (en baisse aussi par rapport aux 5 dernières années). Les échantillons de chiens représentent 81% des prélèvements reçus (Tableau). Deux échantillons n'ont pas pu être analysés à cause de leur mauvais état de conservation à la réception.

Aucun cas de rage humaine n'a été détecté, cependant, seul un prélèvement conforme a été reçu, en provenance de la région du Menabe (Morondava).

Malgré le nombre peu élevé d'échantillons en provenance des districts éloignés d'Antananarivo, le pourcentage de positivité des échantillons d'animaux envoyés varie, tout en restant très élevé (entre 50 et 100%).

L'absence d'un système de surveillance systématique, la méconnaissance des agents sur le terrain des procédures à suivre pour l'envoi des échantillons suspects, ainsi que la difficulté rencontrée lors des envois d'échantillons nécessitent la mise en place d'un système plus performant et une collaboration plus étroite avec les structures publiques et ministérielles.

Les conditions de conservation des échantillons lors de l'envoi sont de première importance, la possibilité d'obtenir des résultats des tests de laboratoire en dépendent significativement.

### III. Conclusion

Les données de laboratoire ne permettent pas d'avoir une vue d'ensemble sur le territoire car 82% des prélèvements proviennent de la province d'Antananarivo (Analamanga, Vakinankaratra, Itasy et Bongolava).

### IV. Impact

Le diagnostic de la rage au laboratoire a un impact direct sur la prise en charge des patients mordus (durée de la vaccination). Il permet aussi d'estimer l'importance du problème posé par la rage à Madagascar et de confirmer les cas de rage humaine.

**Tableau 1 : Nombre de cas de rage confirmés au LNR, selon les espèces animales et le district de provenance des échantillons, 2015**

Région	District	N	Espèce animale			Humain	Rage confirmée	% positivité
			Chat	Chien	Bovin			
Analamanga	Antananarivo Renivohitra	18	5	13	0	0	8	44%
	Antananarivo Atsimondrano	9	3	6	0	0	3	33%
	Antananarivo Avaradrano	7	0	7	0	0	5	71%
	Ambohidratrimo	7	0	7	0	0	6	86%
	Andramasina	2	0	2	0	0	2	100%
	Ankazobe	1	0	1	0	0	0	0%
	Manjakandriana	1	0	1	0	0	0	0%
Vakinankaratra	Antanifotsy	1	0	1	0	0	1	100%
	Antsirabe	1	0	1	0	0	1	100%
	Faratsiho	1	0	1	0	0	1	100%
Itasy	Arivonimamo	2	0	2	0	0	1	50%
Amoroni' Mania	Manandriana	1	0	1	0	0	1	100%
Sofia	Bealanana	1	0	1	0	0	1	100%
Alaotra Mangoro	Ambatondrazaka	1	0	1	0	0	1	100%
	Moramanga	2	1	1	0	0	1	50%
Analanjirifo	Fenerive Est	2	0	0	2	0	2	100%
Atsimo Andrefana	Toliary	1	0	1	0	0	0	0%
Anosy	Taolagnaro	1	0	1	0	0	0	0%
Menabe	Morondava	1	0	0	0	1	0	0%
Boeny	Mahajanga	1	0	0	0	1	NA	NA
<b>TOTAL</b>		<b>61</b>	<b>9</b>	<b>48</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>34</b>	<b>56%</b>

SurvéRo		Surveillance de la Rougeole à Madagascar	
Correspondant :	Email : <a href="mailto:richter@pasteur.mg">richter@pasteur.mg</a>	Date de rédaction	
<b>Richter RAZAFINDRATSIMANDRESY</b>	Tél : <b>+261 20 22 412 72</b>	02/02/2016	
Co-investigateur	IPM	Lieux des travaux	
<b>Jean-Michel HERAUD</b> , unité de virologie, <a href="mailto:jmheraud@pasteur.mg">jmheraud@pasteur.mg</a>		Tous les districts de Madagascar	
Co-investigateurs hors IPM		Budget total	
<b>Service de vaccination, Antananarivo, Madagascar</b>		7500 \$	
Date début : <b>2004</b>	Date fin : Activité continue		
Financements :			
<b>Organisation Mondiale de la Santé (renouvellement annuel)</b>			
Mots clés : <b>Surveillance, rougeole</b>			

## I. Contexte & Justification

La surveillance nationale des cas suspects de rougeole à Madagascar a démarré après les campagnes de vaccination de masse organisées en Septembre et Octobre 2004. Dans le cadre de cette surveillance, le laboratoire est chargé du diagnostic sérologique de la rougeole chez les patients suspects prélevés par les centres de santé.

## II. Objectifs

- Maintenir un diagnostic sérologique selon les standards de l'OMS,
- Assurer un rendu des résultats rapide ( $\leq 7$  jours),
- Vérifier la concordance des résultats de diagnostic de rougeole et rubéole entre le laboratoire national et le laboratoire régional (contrôle qualité),
- Isoler et caractériser génétiquement tous les virus de la rougeole reçus au laboratoire.

## III. Résultats synthétiques annuels

En 2015, le laboratoire a reçu 405 échantillons de sérum. Le taux des prélèvements reçus à une température comprise entre 0 et +8°C (bonne condition) dans le labo était de 91,4% (370/405). Le taux de performance relative à la réception des échantillons dans les 3 jours qui suivent la collecte des prélèvements était de 61,5% ; et le taux d'adéquation des échantillons était de 47,9% (prélèvements de sérums entre le 4<sup>ème</sup> et 28<sup>ème</sup> jour post-éruption). Ils sont encore très en dessous des objectifs attendus (> 90%).

Sur le plan épidémiologique, l'âge médian des patients suspects était de 6 ans (0 à 55 ans) avec une sex-ratio (M/F) de 0,9. Cent cinquante-un des 405 patients (37,3%) avaient des antécédents de vaccination contre la rougeole. Deux cent cinq prélèvements (50,6%) ont été collectés dans les 3 jours qui suivent l'éruption, 194 (47,9%) dans les 4 à 28 jours et 6 prélèvements (1,5%) ont été collectés au-delà de 28 jours.

Trente-sept districts des 112 districts sanitaires (33,0%) n'ont rapporté aucun cas. Il faut souligner que l'absence de cas rapporté ne signifie pas l'absence de circulation du virus de la rougeole.

La recherche d'IgM anti-rougeole a été :

- positive pour 3 prélèvements en provenance d'Ambohimahaso, Antsalova et Fianarantsoa II ;
- négative pour 398 échantillons. Pour ces échantillons, la recherche d'IgM anti-rubéole a été positive pour 89, négative pour 273 et douteuse pour 36. Ces 36 échantillons ayant un résultat « douteux » pour la rubéole ont été testés une seconde fois (sur le même prélèvement) et le résultat a été confirmé (douteux).
- douteuse pour 4 échantillons. La recherche des IgM anti-rubéole avait un résultat positif pour 1 et négatif pour les 3 autres. Ces échantillons ont été prélevés entre le 4<sup>ème</sup> et 28<sup>ème</sup> jour post-éruption cutanée.

Dans le cadre du contrôle qualité, les résultats étaient concordants dans 98% des cas pour la recherche d'IgM anti-rougeole. Les résultats de test de performance sur les sérologies rougeole et rubéole sont de 100% pour l'année 2015.

#### IV. Conclusion

La surveillance de la rougeole à Madagascar est fonctionnelle. Cependant, des améliorations doivent être apportées concernant l'acheminement des prélèvements au laboratoire et le respect de date de prélèvement (4-28 jours post-éruption) pour atteindre les objectifs de performance définis par l'OMS. En 2015, aucun virus de la rougeole n'a été détecté. Aussi, l'objectif d'isoler le virus de la rougeole circulant à Madagascar sera difficile à atteindre du fait du faible nombre de cas positifs (23 cas positifs depuis 2005).

**SQ-AQ****Service qualité : assurance qualité**

Correspondant : **Tiana RASOLONAVALONA** Email : [navalona@pasteur.mg](mailto:navalona@pasteur.mg) Date de rédaction : Février 2016  
Tél : **+261 20 22 412 72**

Responsables de l'activité

- **Tiana RASOLONAVALONA**, service qualité, [navalona@pasteur.mg](mailto:navalona@pasteur.mg)

Mots clés : **Qualité, système de management de la qualité, assurance qualité**

## I. Contexte & justification

Chargé de déployer la politique qualité de la direction de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM), le service qualité vise à soumettre l'ensemble des activités de l'IPM à une démarche qualité pour garantir le maintien de prestations de qualité effectuées dans les règles de l'art médical et scientifique. Le service qualité a pour mission d'accompagner les différentes unités dans la mise en place d'un système de management de la qualité (SMQ) et d'apporter son soutien aux laboratoires accrédités d'une part, d'évaluer périodiquement la conformité des activités des différents services par rapport aux exigences normatives, réglementaires ou contractuelles d'autre part.

## II. Faits marquants de l'année

Formation : le programme de formation du personnel sur la qualité et BPL, initié en 2014, a été finalisé comme prévu en décembre 2015. La formation a porté essentiellement sur les normes NF EN ISO/CEI 17025 V2005 (LHAE : 3 personnes en août, Service Qualité : 2 personnes en septembre) et NF EN ISO 15189 V2012 (CBC : 16 personnes, de janvier à décembre).

## III. Tableaux d'activité synthétique annuelle

### III.1. Activités d'accompagnement et de soutien aux services

Participation régulière au comité de pilotage et aux revues de direction des laboratoires (2 fois par an pour le CBC et une fois par an pour le LHAE).

Participation régulière aux réunions mensuelles organisées par la Direction Administrative et Financière.

En 2015, les activités d'accompagnement et de soutien aux services étaient axées essentiellement sur le CBC dans le cadre du projet d'accréditation de ses activités (formation et accompagnement des responsables qualité, du directeur de laboratoire et des biologistes).

### III.2. Activités d'évaluation et d'audits internes

Le programme annuel des audits internes est programmé par chaque service/unité en début d'année. Le choix du champ d'audit appartient à chaque service. Les audits internes sont ensuite réalisés par les auditeurs habilités par le Service Qualité après une confirmation émanant du service demandeur.

En 2015, 11 audits sur 15 programmés par les services ont été réalisés. La non-réalisation des audits a été motivée soit par l'indisponibilité des services à auditer ou des auditeurs internes, soit par manque d'auditeur technique habilité. L'IPM ne dispose que de 2 auditeurs internes habilités.

Les résultats des audits sont confidentiels et appartiennent aux commanditaires. Seul le bilan des audits réalisés est reporté dans les tableaux suivants.

**Tableau 1 : bilan des évaluations et audits internes**

Services	Prévus	Réalisés
CBC	7	4
LHAE	6	6
ENTOMOLOGIE MEDICALE	1	1
QUALITE	1	0
<b>Total général</b>	<b>15</b>	<b>11</b>

**Tableau 2 : Tableau II : activités auditées par service demandeur**

Services	Période	Activités auditées
CBC	janvier	Audit vertical « Architect »
LHAE	février	Contrôle qualité des milieux de culture
LHAE	avril	Gestion du matériel
CBC	avril	Gestion du personnel
CBC	mai	Management
LHAE	mai	Audit vertical « EAUX » et audit sur la réémission des rapports d'essai
ENTOMOLOGIE MEDICALE	juin	Organisation générale du laboratoire, ELISA, PCR, traçabilité
LHAE	juillet	Management
LHAE	septembre	Essai de traçabilité des paramètres demandés en extension d'accréditation et revue de la méthode NF T 90-431
LHAE	septembre	Audit vertical « ALIMENTAIRE »
CBC	décembre	Gestion des équipements

#### IV. Mise en perspective

- Habilitation d'au moins 2 nouveaux auditeurs internes
- Reprise des réunions périodiques avec les qualitiens et correspondants qualité de l'ensemble des services
- Maintien du programme de formation continue de l'ensemble du personnel de l'IPM aux BPL et aux normes essentielles pour maintenir le niveau de qualité des prestations fournies par tous les laboratoires et unités de recherche.

Note : l'atteinte de ces objectifs dans les délais cohérents nécessite le renforcement de l'effectif du Service Qualité.

**SQ-HSE****Service qualité : biosécurité**

Correspondant : **Tiana RASOLONAVALONA** Email : [navalona@pasteur.mg](mailto:navalona@pasteur.mg) Date de rédaction : Février 2016  
Tél : **+261 20 22 412 72**

Responsables de l'activité

- **Philippe LASNIER**, directeur administratif et financier, [plasnier@pasteur.mg](mailto:plasnier@pasteur.mg)

- **Tiana RASOLONAVALONA**, service qualité, [navalona@pasteur.mg](mailto:navalona@pasteur.mg)

Mots clés : **Biosécurité, hygiène, sécurité, environnement**

## I. Contexte & justification

Assurer la sécurité des personnes et des biens et préserver l'environnement constituent un souci permanent de la direction de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM). Le service qualité (SQ), à travers ses actions au sein du comité consultatif d'hygiène et de sécurité (CCHS), est chargé de veiller au respect de la politique hygiène, sécurité et environnement de l'IPM, de sensibiliser et d'assurer la formation du personnel à la biosécurité et au respect de l'environnement. L'objectif principal étant de prévenir les risques encourus liés aux différentes activités de l'IPM.

## II. Tableaux d'activité synthétique annuelle

### II.1. Vérifications et contrôles des installations et équipements à risque :

Les vérifications et les contrôles réglementaires sont réalisés par des sociétés ou organismes agréés.

Installations et équipements	Fréquence	Nb	Nb contrôles prévus	Réalisés
Réseau Incendie Armé (RIA)	Annuelle	14	14	14
Extincteurs	Annuelle	110	110	110
Détecteur et alarme incendie	Annuelle	1	1	1
PSM, diverses hottes, box animalier	18 mois	56	56	56
Autoclaves (*)	18 mois	12	12	0
Réseau de distribution de gaz	Annuelle	2	2	2
Laboratoire de sécurité biologique de niveau 3 (NSB3)	18 mois	1	1	1
<b>Total</b>		<b>196</b>	<b>196</b>	<b>184</b>

(\*) Les autoclaves n'ont pas pu être vérifiés dans les délais prévus (décembre 2015) car plus de la moitié étaient en panne.

## II.2. Suivi de la restauration collective

### II.2.1. Cantine du personnel

Les prélèvements et analyses microbiologiques sont périodiquement réalisés par le LHAÉ.

Contrôles	Fréquence	Nb contrôles prévus	Réalisés
Plats cuisinés	Mensuelle	12	11
Produit frais à base de lait	Mensuelle	12	11
Hygiène des surfaces et matériels (3 points)	Mensuelle	36	34
Hygiène des mains (3 personnes)	Trimestrielle	12	15
<b>Total</b>		<b>72</b>	<b>71</b>

### II.2.2. Cafétéria

Les prélèvements, les analyses microbiologiques et les visites d'hygiène sont périodiquement réalisés par le LHAÉ. Le CCHS réalise également des visites inopinées.

Contrôles	Fréquence	Nb contrôles prévus	Réalisés
Produits alimentaires sensibles (3 produits)	Mensuelle	36	35
Hygiène des surfaces et matériels (3 points)	Mensuelle	36	33
Hygiène des mains (3 personnes)	Trimestrielle	12	24
Visites d'hygiène	Mensuelle	12	08
<b>Total</b>		<b>96</b>	<b>100</b>

### II.2.3. Visite des unités et services

Les membres du CCHS réalisent des visites mensuelles des unités et services. Ces visites permettent de vérifier le respect des consignes et d'identifier les risques éventuels. En cas de non-conformité, des actions correctives sont mises en place par le service concerné avec l'appui du CCHS. En 2015, 12 visites ont été réalisées (cantine, services, cafétéria).

## II.3. Environnement

### II.3.1. Qualité de l'eau

L'eau d'adduction et l'eau de source sur le campus de l'IPM sont régulièrement contrôlées. En 2015, 20/20 échantillons d'eau d'adduction issus des différents bâtiments et 3/11 échantillons d'eau de sources ont été contrôlés conformes aux critères bactériologiques de potabilité. Etant donné que la qualité de l'eau de source n'a pas pu être maîtrisée, son contrôle périodique a été arrêté. Une information à l'ensemble du personnel de l'IPM sur les risques a été émise par la Direction.

### II.3.2. Gestion des Déchets d'Activités de Soins (DAS) :

Les déchets d'activités de soins à risque infectieux (DASRI) et les déchets de laboratoire assimilés aux ordures ménagères (DAOM) sont traités pour la majeure partie (90%) par une entreprise spécialisée et agréée. En 2015, 8,120 tonnes de DAS (7,190T de DASRI et 1,101T de DAOM) ont été produits par l'ensemble des laboratoires avec une diminution de 6,384T par rapport à la production de 2014 (14,504T dont 12,500T de DASRI et 2,004T de DAOM). L'objectif d'améliorer la qualité du tri à la source des DAS n'a pas toujours été atteint car le taux de DASRI a été encore de 86% par rapport à la production totale. En effet, la quantité de DASRI doit être entre 30 à 40% de la production totale pour attester d'une bonne pratique de tri à la source de DAS. L'élimination des déchets chimiques toxiques ainsi que des polluants (solvants, insecticides, etc.) s'avère problématique pour l'IPM. L'analyse et la mise en place des moyens et méthodes d'élimination reste d'actualité.

### II.4. Tableaux de résultats annuels

#### Cantine du personnel

Contrôles	Nb contrôles	Résultats
Plats cuisinés	11	11/11 conformes
Produit frais à base de lait	11	11 conformes
Hygiène des surfaces et matériels (3 points)	34	17/34 conformes
Hygiène des mains (3 personnes)	15	15/15 conformes
<b>Total</b>	<b>71</b>	

#### Cafétéria

Contrôles	Nb contrôles	Résultats
Produits alimentaires sensibles (3 produits)	35	33/35 conformes
Hygiène des surfaces et matériels (3 points)	33	6/33 conformes
Hygiène des mains (3 personnes)	24	24/24 conformes
<b>Total</b>	<b>92</b>	

#### Eaux

Contrôles	Nb contrôles	Résultats
Eau d'adduction	21	21/21 conformes
Eau de source	11	3/11 conformes
<b>Total</b>	<b>33</b>	

### III. Mise en perspective

- Déchets solides tritiés : reconditionnement et stockage dans un nouveau local de décroissance mieux adaptés.
- Traitement des déchets chimiques toxiques et des polluants : filière d'élimination à mettre en place afin de renforcer la prévention du personnel et la préservation de l'environnement.
- Incinérateur de DAS à l'IPM : vétuste et à capacité d'absorption limitée. Dédié au traitement des DASRI piquants, des pièces anatomiques et des DAS non-conformes. Son remplacement devrait être étudiée afin d'assurer le traitement efficace, sans risque et de manière pérenne des DAS en cas de problème avec le seul prestataire externe agréé.
- Renforcement de la formation de l'ensemble du personnel au tri et élimination des DAS.

**SQ-MET****Service qualité : métrologie**

Correspondant : **Tiana RASOLONAVALONA** Email : [navalona@pasteur.mg](mailto:navalona@pasteur.mg) Date de rédaction : Février 2016  
Tél : **+261 20 22 412 72**

Responsables de l'activité

- **Tiana RASOLONAVALONA**, service qualité, [navalona@pasteur.mg](mailto:navalona@pasteur.mg)

Mots clés : **Qualité, Métrologie, température, masse, balance, volume**

## I. Contexte & justification

La métrologie est une activité essentielle sur laquelle repose la crédibilité des résultats d'analyses réalisées par les laboratoires. Les unités et services identifient leurs grandeurs et les appareils de mesure critiques afin de maîtriser les conditions d'analyse et de conservation. Le service qualité s'assure de la fiabilité, de la justesse, de la reproductibilité et de la fonctionnalité de ces appareils de mesure en assurant leur raccordement au Système International (SI) de mesure. Les appareils de mesure critiques sont étalonnés et/ou vérifiés avant la première mise en service, périodiquement à intervalle régulier et après une maintenance curative. Les résultats d'étalonnage fournissent les caractéristiques métrologiques permettant d'apporter les corrections aux mesurages réalisés. La vérification, quant à elle, permet d'établir la conformité d'un appareil de mesure par rapport aux exigences ou spécifications métrologiques définies par l'utilisateur et se rapportant aux analyses concernées et aux produits sensibles conservés (vaccins, réactifs, matériels biologiques).

## II. Faits marquants de l'année

Habilitation d'une technicienne du LHAE en métrologie des masses, des balances (IPFNA) et volumétrie. Cette technicienne peut désormais réaliser les opérations d'étalonnage et de vérification des appareils de son laboratoire. La validation des résultats reste cependant sous la responsabilité du personnel habilité du Service Qualité.

## III. Tableaux d'activité synthétique annuelle

Le Service Qualité réalise, au sein de son laboratoire de métrologie, des opérations de vérification et d'étalonnage dans la limite de ses capacités. Ces opérations sont réalisées à la demande des unités/services utilisateurs. En fonction des besoins et exigences des utilisateurs, des appareils de mesure peuvent être envoyés, à l'étranger, dans un laboratoire accrédité Cofrac.

Tableau 1 : Nombre d'appareils de mesure vérifiés et étalonnés

Type appareils de mesure	Vérifiés <sup>(1)</sup>	Étalonnés <sup>(2)</sup>	Total
<b>Métrologie de la température</b>			<b>80</b>
Chambre froide positive	2		2
Congélateur	3		3
Etuve	17		17
Réfrigérateur	10		10
Combiné réfrigérateur/congélateur	0		0
Bain-marie thermostaté	8		8
Bain sec	2		2
Chaîne de mesure de la température		35	35
Centrale d'acquisition de données température		3	3
<b>Métrologie des masses</b>			<b>34</b>
Balance de précision	23		23
Masse		11	11
<b>Volumétrie</b>			<b>57</b>
Micropipette (IVAP)	51		51
Pipettes graduées (nb de lots)	6		6
<b>Total général</b>	<b>122</b>	<b>49</b>	<b>171</b>

Note : (1) la vérification permet d'établir la conformité d'un appareil de mesure par rapport aux exigences ou spécifications métrologiques définies par l'utilisateur et se rapportant aux analyses concernées. (2) les résultats d'étalonnage fournissent les caractéristiques métrologiques permettant d'apporter les corrections aux mesurages réalisés.

## IV. Tableaux de résultats annuels

Résultats des vérifications par rapports aux spécifications métrologiques demandées par les utilisateurs

Type appareils de mesure	Résultats 2015		Total
	Conforme <sup>(1)</sup>	Non conforme <sup>(2)</sup>	
<b>Métrologie de la température</b>			<b>42</b>
Chambre froide positive	1	1	2
Congélateur	2	1	3
Etuve	17		17
Réfrigérateur	5	5	10
Bain-marie thermostaté	8		8
Bain sec	2		2
<b>Métrologie des masses</b>			<b>23</b>
Balance de précision	23		23
<b>Volumétrie</b>			<b>57</b>
Micropipette (IVAP)	38	13	51
Pipettes graduées (nb de lots)	6		6
<b>Total général</b>	<b>102</b>	<b>20</b>	<b>122</b>

Note : (1) la confirmation métrologique est un ensemble d'opérations nécessaires pour assurer qu'un équipement de mesure répond aux exigences correspondant à l'utilisation prévue. (2) En cas de non-conformité, les utilisateurs évaluent les conséquences, les risques induits, l'impact et l'étendue de la non-conformité et mettent en place des actions correctives adéquates.

## V. Mise en perspective

Le service qualité assure des activités supports, dont la métrologie, pour l'ensemble des laboratoires à l'IPM. Au même titre que les laboratoires notamment accrédités, le service qualité doit prouver ses compétences aux organismes accréditeurs. Pour cela, le service qualité a inscrit dans ses priorités pour 2016 :

1. Renforcement de la formation en métrologie de l'équipe du service qualité.
2. Audit à blanc des activités à accréditer avant fin 2016 ou début 2017.
3. Finalisation du programme de formation et d'habilitation des techniciens des laboratoires accrédités ou engagés dans un processus d'accréditation Cofrac aux opérations de vérification et d'étalonnage. Cette disposition, fortement recommandée par le Cofrac, permettra aux laboratoires concernés de prouver la maîtrise des grandeurs critiques influant sur la qualité des résultats d'analyse.

« Plus de 115 ans d'excellence au service de la santé et des entreprises »

**Institut Pasteur de Madagascar**

B.P. 1274, Ambatofotsikely Avaradoha

101 Antananarivo, Madagascar

Téléphone : (+261 20) 22 412 72

Email : [ipm@pasteur.mg](mailto:ipm@pasteur.mg)

Site web : [www.pasteur.mg](http://www.pasteur.mg)

