



**Institut Pasteur  
de Madagascar**

# **RAPPORT D'ACTIVITES 2010**

**Institut Pasteur de Madagascar**  
**BP 1274 - 101 Antananarivo**  
Tel (261 20) 22 412 72/74  
Fax (261 20) 22 415 34  
E-mail [ipm@pasteur.mg](mailto:ipm@pasteur.mg)  
Site Web [www.pasteur.mg](http://www.pasteur.mg)

*Réseau International des Instituts Pasteur*

# Sommaire

*Préambule*  
*Organigramme*  
*Adresses électroniques*  
*Liste du personnel*

## ACTIVITES DE RECHERCHE

- Paludisme .....	15
- Entomologie .....	20
- Peste .....	29
- Tuberculose et mycobactéries.....	35
- Maladies virales .....	40
- Epidémiologie.....	47
- Immunologie.....	52
- Bactériologie expérimentale.....	56

## ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

### Activités des différents centres collaborateurs et laboratoires de référence

- Centre Collaborateur OMS pour la Peste .....	62
- Laboratoire National de Référence OMS pour la Poliomyélite .....	63
- Laboratoire National de Référence OMS pour la Rougeole.....	64
- Laboratoire National de Référence OMS pour la Grippe.....	65
- Laboratoire National de Référence des Mycobactéries .....	69
- Laboratoire Central de la Bilharziose .....	70
- Laboratoire Central de la Peste.....	72
- Laboratoire National de Référence pour la Rage.....	75
- Centre National de Référence pour les Arbovirus et les virus responsables des Fièvres Hémorragiques.....	75

### Autres activités de santé publique

- Activités de Santé Publique du Groupe de Recherche sur le Paludisme.....	77
- Activités de Santé Publique de l'Unité d'Entomologie médicale.....	82
- Activités de Santé Publique de l'Unité d'Epidémiologie.....	86

## ACTIVITES DE SERVICE

- Centre de Biologie Clinique	
• Laboratoire d'analyses médicales .....	92
• Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques .....	99
- Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement .....	102
- Laboratoire d'Epidémio-Surveillance des pathologies de la crevette (LES).....	105
- Centre International de Vaccination .....	108
- Centre de Traitement Antirabique .....	108
- Laboratoire Central de la Peste/Unité de production de bandelettes.....	109
- Service Qualité.....	110

## ACTIVITES DE FORMATION

- Formations .....	115
- Enseignements .....	120
- Centre de Documentation Scientifique .....	122

## PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

<i>Publications</i> .....	125
<i>Communications</i> .....	128
<i>Missions scientifiques</i> .....	131
<i>Conférences, Parlures, Visiteurs</i> .....	133

# Préambule

*L'Institut Pasteur de Madagascar est un établissement scientifique placé sous la tutelle du Ministère de la Santé Publique et reconnu d'utilité publique par le Gouvernement de la République Malagasy, selon une convention de 1961 qui lie ce Gouvernement et l'Institut Pasteur à Paris.*

*Ce statut lui confère quatre missions principales : des activités de recherche directement appliquées aux priorités de santé nationales, des activités de santé publique et d'expertises par ses Centres de Référence OMS ou Nationaux, des activités de formation et d'enseignement et des activités de diagnostic et de lutte (Centre de Biologie Clinique, Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement, Centre International de Vaccination). L'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) est à la disposition du Ministère de la Santé Publique pour réaliser les études et enquêtes qu'il lui demande.*

*Au cours de l'année 2010, l'IPM a poursuivi sa rénovation. Le nouveau Centre de Biologie Clinique a été inauguré par le Ministre de la Santé Publique en décembre. En termes d'organisation, l'Unité de bactériologie moléculaire est devenue Unité de bactériologie expérimentale.*

*La fin de l'année 2009 et le début de l'année 2010 ont été marqués par l'épidémie de grippe pandémique H1N1 qui a très largement mobilisé les services et unités de l'IPM. Le système de surveillance épidémiologique des fièvres reposant sur plusieurs dizaines de sites sentinelles à travers le pays a permis un suivi en temps réel (quotidien) des syndromes grippaux et de collecter des souches virales. L'adéquation du vaccin anti-grippal avec les souches circulantes a été vérifiée en continu. Les travaux de l'IPM ont permis de remonter aux infections et épidémies initiales qui ont permis au virus pandémique de se répandre dans le pays, régions par régions. Ils ont aussi montré qu'une faible proportion, de l'ordre d'un tiers seulement, des infections étaient symptomatiques mais que la vague épidémique avait été associée à une augmentation de 20% de la mortalité par affections respiratoires. Peu de pays de l'Océan Indien ou de la région Afrique de l'OMS ont pu disposer de données épidémiologiques et biologiques comparables à celles mises à la disposition du Ministère de la Santé Publique par l'IPM. Ces précieuses informations et la poursuite de la surveillance de la grippe permettent d'aborder la question de l'utilité d'une vaccination antigrippale plus large de la population malagasy.*

*L'année 2010 a aussi été marquée par le lancement, sur le terrain, du système de suivi démographique et sanitaire (SSDS) de Moramanga. Son ambition, à terme, est d'assurer le suivi d'une population de 80 000 habitants des 4 communes du district sanitaire de Moramanga. Avec la rénovation du laboratoire de biologie et l'ouverture d'un service de pédiatrie dans l'hôpital du district, l'IPM dispose maintenant d'un outil important pour mener des recherches cliniques et épidémiologique de grande envergure. Des travaux sur les diarrhées, sur les résistances aux antibiotiques, sur les syndromes de détresse respiratoire et sur les vecteurs du paludisme y sont déjà menés. La base de Moramanga devrait accueillir, dans les prochaines années, un nombre croissant de programmes de recherche.*

*Sur le plan de la formation, l'année 2010 a été marquée par la première session de l'atelier sur la surveillance épidémiologique et l'investigation d'épidémies qui se déroule pendant 6 semaines et qui comprend une semaine d'application sur le terrain.*

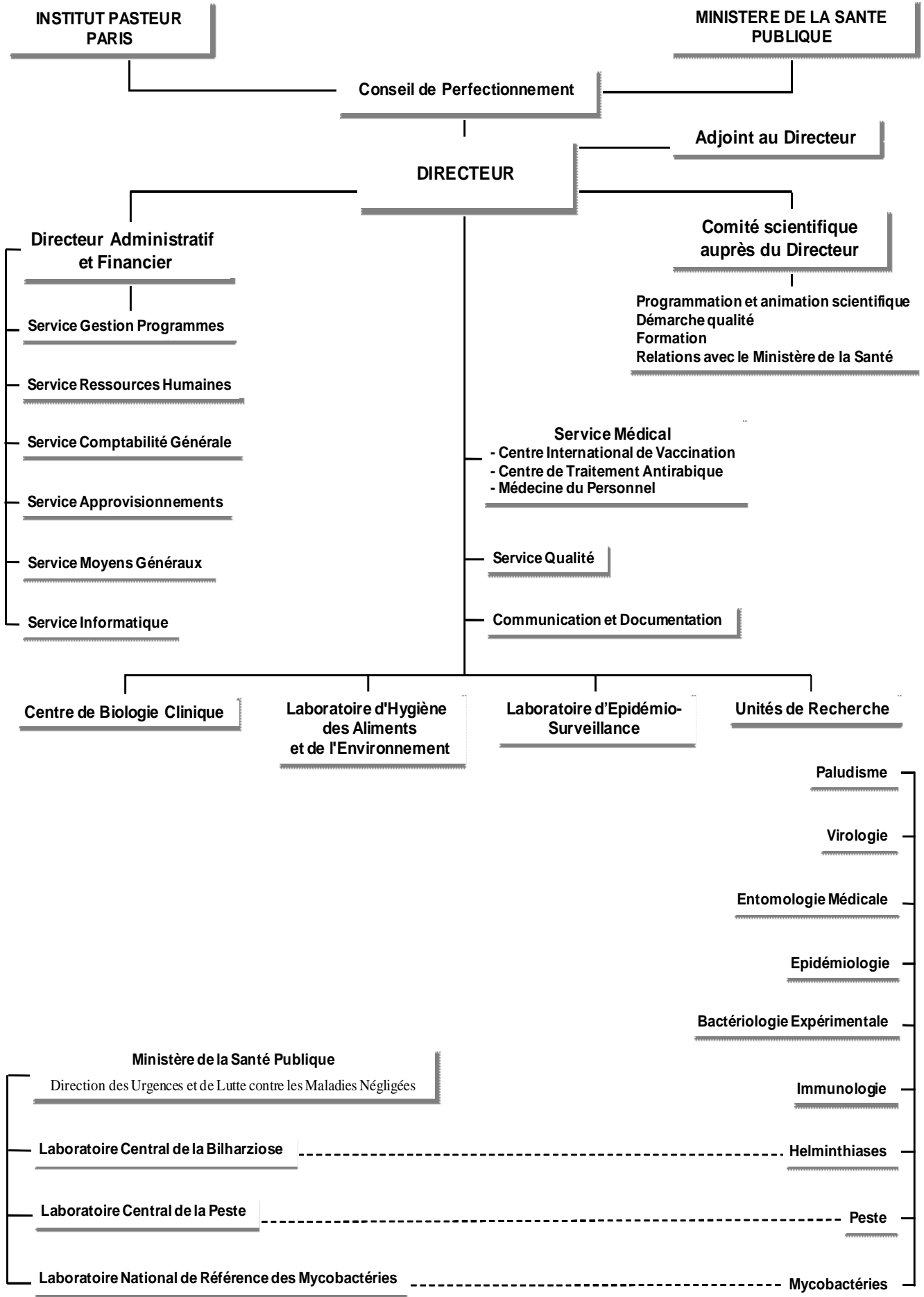
*Les activités traditionnelles de l'IPM sur la peste, les mycobactéries, la bilharziose, le paludisme, la cysticercose, les arboviroses, les virus entériques, la rage, en entomologie et en immunologie se sont poursuivies comme celles du CBC, du LHAE et du LES. Le processus qualité est en train d'irriguer l'ensemble des activités de l'IPM et lui permet d'en faire accréditer un nombre croissant.*

*Comme depuis 113 ans, L'IPM a continué à remplir sa mission au bénéfice de la santé publique et du développement économique du pays.*

**Pr Christophe ROGIER**

*Directeur de l'Institut Pasteur de Madagascar (depuis mars 2011)*

# Organigramme 2012



# Adresses électroniques

<b>Institut Pasteur de Madagascar</b>	ipm@pasteur.mg
<b>Direction</b> ROGIER Christophe ANDRIANAJA RAVAOALIMALALA Vololomboahangy DAUFRESNE Guillaume	crogier@pasteur.mg andriv@pasteur.mg gdaufresne@pasteur.mg
<b>Secrétariat de Direction</b> RAJAONERA Lalao	lalao@pasteur.mg
<b>Service Gestion Programmes</b> RASOLOFO Serge	srasolo@pasteur.mg
<b>Service Ressources Humaines</b> VIANNEY Jeannine	vianney@pasteur.mg
<b>Service Informatique</b> MOUSTACHE Christian RABENAIVO Celse RAZAFINTSALAMA Navalona	moustach@pasteur.mg celse@pasteur.mg rnavalona@pasteur.mg
<b>Bureau Communication et Documentation</b> RAZAFINDRAMBOLA Hary	hary@pasteur.mg
<b>Service Qualité</b> RASOLONAVALONA Tiana	navalona@pasteur.mg
<b>Service Médical</b> RAMIANDRASOA Ravo RAKOTOMALALA William	ravo@pasteur.mg malala@pasteur.mg
<b>Centre de Biologie Clinique</b> RANDRIANIRINA Frédérique RATSIMA Hariniaina Elisoa RAMPARANY Lovasoa RAHARISOLO VOLOLONANTENAINA Clairette	frederique@pasteur.mg elisoa@pasteur.mg lova@pasteur.mg claire@pasteur.mg
<b>Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement</b> BASTARAUD-CELESTIN Alexandra RAVAONINDRINA Noro	lhae@pasteur.mg abastaraud@pasteur.mg nravaoni@pasteur.mg
<b>Laboratoire d'Epidémiologie-Surveillance</b> CHUNGUE Eliane RAZANAJATOVO Iony Manitra	echungue@pasteur.mg ionyr@pasteur.mg
<b>Unité Bactériologie Expérimentale</b> GARIN Benoît DUBOIS Natasha	bgarin@pasteur.mg ndubois@pasteur.mg
<b>Unité Paludisme</b> RANDRIANARIVELOJOSIA Milijaona	palu@pasteur.mg milijaon@pasteur.mg
<b>Unité Immunologie</b> JAMBOU Ronan RAZAKANDRAINIBE Romy	rjambou@pasteur.mg romy@pasteur.mg
<b>Unité Virologie</b> HERAUD Jean Michel ANDRIAMANDIMBY Soa Fy RAZAFINDRATSIMANDRESY Richter GUILLEBAUD Julia	jmheraud@pasteur.mg soafy@pasteur.mg richter@pasteur.mg gjulia@pasteur.mg
<b>Unité Entomologie Médicale</b> ELISSA Nohal RATOVONJATO Jocelyn	nelissa@pasteur.mg ratov@pasteur.mg
<b>Unité Epidémiologie</b> RANDREMANANA Rindra Vatosoa RAJATONIRINA Soatiana Cathycia RAKOTOMANANA Fanjasoa	rrendrem@pasteur.mg soatiana@pasteur.mg fanja@pasteur.mg
<b>Unité Peste/ Laboratoire Central de la Peste</b> RAJERISON Minoarisoa ANDRIANALIMANANA Samuel	mino@pasteur.mg asamuel@pasteur.mg
<b>Unité Tuberculose / Laboratoire National de Référence des Mycobactéries</b> RASOLOFO Voahangy RAMAROKOTO Herimanana	vrasolof@pasteur.mg herimana@pasteur.mg
<b>Laboratoire Central de la Bilharziose / Helminthiases</b> ANDRIANAJA RAVAOALIMALALA Vololomboahangy RAVONIARIMBININA Pascaline	andriv@pasteur.mg pascalin@pasteur.mg

# Personnel

## Directeur

M. Christophe Rogier, Professeur Agrégé de Recherche

## Adjointe au Directeur

Mme Vololomboahangy Ravaoalimalala, médecin

## Secrétaire de direction

Mme Lalao Rajaonera

## Centre International de Vaccination

Mme Ravoniaina Ramiasrasoa, médecin

Mme Hanitra Andrianjafy, paramédicale

## Centre de traitement antirabique

### Médecine du personnel

M. Tharcisius William Rakotomalala, médecin

M. Rakotonirina Maurice Ratavilahy, paramédical

## Directeur Administratif et Financier

M. Guillaume Daufresne

## Secrétaire

Mme Harinivo Razafindravao

## Service qualité

Mlle Tiana Rasolonalona

M. Haja Ramaherison

M. Manantena Eddie Ramanantsoa

## Bureau Communication et Documentation

Mme Hary Cynthia Colombe Razafindrambola

Mme Nivo Mahery Razafintsoa

Mme Fara Haingotiana Rajerison

Mme Princy Rakotoarison

## EQUIPE SCIENTIFIQUE

### Centre de Biologie Clinique (CBC)

#### Chef de service

Mme Frédérique Randrianirina, médecin biologiste

#### Adjoints

##### Cellule Biologie

Mme Elisoa Ratsima, médecin biologiste

Mme Lovasoa Ramparany, médecin biologiste

##### Cellule Anato-pathologie

Mme Clairette Raharisofo Vololonantenaina, médecin anatomopathologiste

Mme Narindra Rakotonanahary, médecin

#### Responsable Qualité

M. Haja Lalaina Ramaherison

#### Surveillants

Mme Henriette Ramalahanoharana, technicienne supérieure

#### Techniciens

Mme Marie Lidwine Rasoamalala

Mme Fanja Brigitte Razanadrasoa

Mme Eugénie Rambolatiana Rahasana

Mme Bénédicte Razanamialisoa

Mme Lantoso Miarana Ravolomboahangy

Mme Marie Adeline Raveloarilalao

Mme Odette Voahanginirina

Mme Mialimalala Razanaharinivo

Mme Bakoly Ramiadantsoa

Mme Marie Goretti Rasoamalala

Mme Mirana Tahiry Andriamalala

Mlle Franchelette Rivonantenaina Razafimoraina

Mlle Kanto Miadanandrianina Rakotonanahary

Mlle Sitraka Andriaminoherihana

Mme Nadia Harinoro Fidèle

Mme Jany Vololoniaina Harimampionona

M. Georges Ranaivo

M. Arsène Randrianaivo

M. Nofiniaina Randriamirambola

M. Rivoson Rasolomandimby

M. Lova Razafindranaivo

M. Jean Nicolas Nomenjanahary Rasolofoniaina

M. Willer Randriamanana

#### Aide-techniciens

M. Dieu Dorès Andriao

M. Hery Tiana Andriamasiniaina

M. Eric Rivolala Ratsimbazafy

#### Agents de laboratoire

M. M. Jean Pierre Ramangalahy

M. Joachim Rakotomalala

#### Personnels d'accueil et de secrétariat

Mme Nathalie Rabesahala

Mme Sahondra Randrianja

Mme Fanja Eliane Randriaharilantsoa

Mme Hanitra Randriantafika

Mme Mamy Voahirana Ramanitriniony

Mme Hantarivelo Rakotomalala

Mme Hanta Rakotoharimanana

Mme Harivelo Hanitriniaina Razafimaharo

Mme Annie Josiane Raholimalala

#### Secrétaires standardistes

M David Christie Andrianotohana

M. Mamy Hugues Ranaivoson

### Unité Helminthiase

#### Chef d'Unité

Mme Vololomboahangy Ravaoalimalala, médecin, chargé de recherches

#### Adjoint

Mme Pascaline Ravoniarimbina, médecin, détachée du Ministère de la Santé Publique

#### Personnels détachés du Ministère de la Santé Publique

Mme Sahondra Rasoanaivo, secrétaire

M. Clovis Norbertio Rasamilaza, technicien de laboratoire

M. Zina Rakotonandrasana, technicien de laboratoire

M. Lalao Augustin Razanajatovo, agent de laboratoire

## Unité Bactériologie Expérimentale

### Chef d'Unité

M. Benoît Garin

### Adjoint

Mlle Natasha Dubois, scientifique

## Unité d'Entomologie

### Chef d'Unité

Mme Nohal Elissa, PhD, entomologiste médical

### Adjoint

M. Jocelyn Ratovonjato, médecin entomologiste médical

### Agents de laboratoire

M. Haja Johnson Velonirina

M Mandimby Rajaonarimanana

### Surveillant

M. Lala Andrianaivolambo, technicien supérieur

### Techniciens

M. Etienne Tata

M. Jean Claude Rakotoniaina

M. Tojo Rindra Ramihangihajason

## Unité d'Epidémiologie

### Chef d'Unité

M. Vincent Richard, médecin épidémiologiste

### Adjoint

M. Maherisoa Ratsitorahina, médecin, coordonnateur

### Cellule de Système d'Information Géographique

Mme Fanjasoa Rakotomanana, médecin, responsable

### Cellule de Modélisation

Mme Rindra Vatosoa Randremanana, médecin

### Cellule Surveillance des sites sentinelles

Mme Laurence Randrianasolo, médecin, responsable

Mme Mbolatiana Raveloarimanana, médecin, animatrice

### Secrétaire

Mme Faramalala Erica Ramamonjisoa

### Médecins cellule d'études cliniques

M. Charles Emile Ramarokoto

M. Perlinot Herindrainy

Mme Soatiana Cathycia Rajatonirina

Mme Vaomalala Raharimanga

Mme Rila Ratovoson

M. Heritiana Randriarilala, basé à Moramanga

M. Arthur Dieudonné Randriamanantena, basé à Moramanga

### Cellule démographique

Mlle Lina Holiarisoa Rakotoson, scientifique démographe

Mme Anny Mirella Randriamoramanana

Mme Emma Raharijaona, socio-démographe

### Cellule informatique

Mme Anny Mirella Randriamoramanana, data manager

M. Reziky Tiandraza Mangahasimbola, data manager

M. Fenitra Rajaonarivelo, transcripteur de données

M. Sendrahasina Tojo Ramanamitandrina, agent de saisie

M. Fenositraka Andriamasinoro, agent de saisie

M. Mbolatsiry Randriarinasny, agent de saisie

## Unité Immunologie

### Chef d'Unité

M. Ronan Jambou, scientifique

### Adjoint

M. Romy Razakandrainibe, scientifique

### Ingénieur de biotechnologie

Mme Anjanirina Rahantamalala

### Techniciens

Mme Emma Rakotomalala, technicienne supérieure

M. Mahenintsoa Rakotondrazaka

### Agent de laboratoire

M. Nônô Randrianasolo

## Unité des Mycobactéries

### Chef d'Unité

Mme Voahangy Razanamparany, scientifique, chargé de recherches

### Adjoint

M. Naina Rakotosamimanana, scientifique, responsable technique

### Laboratoire National de Référence des Mycobactéries

M. Herimanana Ramarokoto, médecin, bi-appartenant (Ministère de la Santé Publique/ IPM)

### Surveillante

Mme Pascaline Ravololonandriana, technicienne

### Techniciens

Mme Elie Jeanne Vololonirina

M. Basile Louis Razanajatovo

M. Luc Arsène Andrianantara

### Agents de laboratoire

M. René Harifetra Razanatsimba

M. Sitraka Heriniaina

## Unité Paludisme

### Chef d'Unité

M. Milijaona Randrianarivelosia, scientifique, chargé de recherches

### Ingénieur de recherche

Mlle Elisabeth Ravaoarisoa, scientifique

### Médecins

Mme Jemima Ravelonarivo, stagiaire de recherche

Mlle Léonora Ravolanjarasoa, étude clinique

### Secrétaire

Mme Sylvia Noroarisoa Rakotomalala



**Techniciens**

Mme Sehen Razanatsiorimalala  
 Mme Nadia Raboanatahiry  
 Mme Domoina Randriantsoa  
 Mme Elie Noro Rahoimalalala

Mlle Harinah Zafiarison  
 M. Hasinirina Rogelin Raheerinjafy  
 M. Martial Jahevitra

**Agent de laboratoire**

M. Tianaso Andriamiandranoro

**Unité Peste****Chef d'Unité**

Mme Minoarisoa Rajerison, scientifique

**Responsable mammalogie**

Mme Soanandrasana Rahelinirina, scientifique

**Surveillante**

Mme Claudine Raharimanana, technicienne de laboratoire

**Techniciens (IPM)**

Mme Voahangy Andrianaivoarimanana  
 Mme Fehivola Mandanirina Andriamiarimanana  
 Mme Corinne Ernestine Rahaingosoamamitiana  
 M. Michel Ranjalahy  
 M. Hobiniaina Todisoa

**Agents de laboratoire (IPM)**

Mme Anne Marie Ravelonoro  
 M. Joely Razafilalaintsoa

M. Rindra Josoa Ratsimihy

**Laboratoire Central de la Peste, Ministère de la Santé Publique**

M. Samuel Andrianalimanana, médecin, détaché du Ministère de la Santé Publique

**Techniciens de Laboratoire**

M. Mamy Ratsimba  
 Mme Lalao Angeltine Ralafiarisoa  
 Mme Noromihaja Randriananja

**Secrétaire**

Mlle Solo Mamitiana Aimée Razafinjatovo

**Agents de laboratoire**

M. Maro Jean Pierre Ralijaona  
 M. Alain Rakotonirina  
 M. Todisoa Hobiniaina

**Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement****Chef de laboratoire**

Mme Malika Gouali, scientifique

**Adjoint**

Mme Noro Ravaonindrina, médecin

**Responsable technique**

Mme Fanjasolovololona Razafindralambo

**Conseillère qualité en entreprise**

Mme Vero Ramiandrasoa

**Responsable qualité**

Mme Lantsoa Zoé Raharinivo

**Surveillant**

M. Bien Aimé Rafanomezantsoa

**Secrétaires**

Mme Doris Raveloniaina  
 Mme Irène Claudia Lalaharivony

**Techniciens**

M. Patrick Tantely Rafalimanana  
 M. Jackson Mahazosaotra  
 M. Ely Jo Razaname  
 Mme Eliane Rajaomiarisoa  
 Mlle Joelle Raonivalo

**Agents de laboratoire**

Mme Odile Raveloniaina  
 Mme Sahondra Raharinivosoa  
 M. Edmond Randrianasolo  
 M. Frédérique Andriamamenosoa

**Préparateurs**

M. Robinson Ramarason  
 M. Abel Patrick Andriambolamaro  
 M. Jean Charles Ramanantsoa

**Laboratoire d'Epidémiologie-Surveillance****Chef de laboratoire**

Mme Eliane Chungue, scientifique, HDR

**Adjoint**

Mlle Iony Razanajatovo, scientifique

**Techniciens**

Mme Fenosoa Raharimanana  
 M. Bary Hery Jaofara

**Unité de Virologie****Chef d'Unité**

M. Jean Michel Héraud, scientifique, chargé de recherches

**Adjoints**

Mme Soa Fy Andriamandimby, médecin  
 M. Richter Mamy Razafindratsimandresy, scientifique  
 M. Arnaud Orelle, Mme Julia Guillebaud, scientifiques, VIE

**Surveillant**

M. Seth Jaovanona

**Secrétaire**

Mme Hanitriniaina Raharimampianina

**Techniciens**

Mme Sendraharimanana Rabemanantsoa  
 Mme Josette Elysée Razainirina  
 Mlle Nadia Kaloina Razafindralambo

Mme Vololoniaina Raharinosy  
 M. Nelson Seta Andriamamonjy  
 M. Girard Marcellin Razafitrimo  
 M. Andriamasina Herivelo Randriamanantena  
 M. Jean Pierre Ravalohery  
 M. Jean Théophile Rafisandratantsoa  
 M. Lalaina Arivony Nomenjanahary  
 M. Stellans Nomenjanahary  
 Mme Ravaoarisoa Rakoto Rakotomalala, animalerie

**Agents de laboratoire**

M. Désiré Rakotondramanana  
 M. Jules Ravalohery  
 M. Dodoly Alain Heriniaina  
 M. Gabriel Ravelojaona

## ADMINISTRATION ET SERVICE TECHNIQUE

### Directeur Administratif et Financier

M. Guillaume Daufresne

### Adjoints

M. Serge Rasolofo, responsable gestion de programmes  
Mme Jeannine R Vianney, chargée des ressources humaines

### Assistantes au RH

Mme Edith Joëlle Loma Sam  
Mme Laurette Yvonne Lalamiandrisoa

### Secrétaire

Mme Harinivo Razafindravao

### Central téléphonique

Mme Odile Robsona  
M. Jeannot Razafindrabe  
M. José Christian Razafimamonjy

### Vaguemestre

M. Félix Andrianasolo

### Service de la comptabilité

M. Rakotondrasoa Faly, chef comptable  
M. Félicien Razafimbelo, caissier en chef  
M. Dofaherinjaka, cellule dépenses  
Mme Razanamalala Verohanitra Yvonne, cellule dépenses  
Mlle Brigitte Raharimalala, cellule recettes  
Mlle Rasoanirina Justine, cellule recettes

### Service Informatique

M. Christian Moustache, responsable du service  
M. Navalona Razafintsalama, contrôleur de gestion  
M. Celse Rabenaivo, contrôleur de gestion

### Service des approvisionnements

M. Sandimarohery Rakotondrainy, responsable du service  
M. Solofotiana Raharison, déclarant en douanes  
M. Alfred Rakotoarinelina, agent de transit  
M. Nirina Rakotonanahary, magasinier  
M. Solo Andrianantenaina, agent d'achat  
Mme Julie Lina Hajarimanana, chargée des suivis de commandes  
M. Christian Rasamoelina Rarija, gestion des matériels

### Service des moyens généraux

M. Prosper Rakotoniaina, chef de service  
M. Barinjaka Rabemalala, adjoint au chef de service

### Chauffeurs

M. Rodolphe Razafindrabe  
M. Joseph Randrianasy  
M. Désiré Rakotonivelo  
M. Gilbert Rakotoniaina  
M. Richard Rajerison  
M. Olivier Randriambololona  
M. Fidimalala Rabenandrasana, basé à Moramanga

### Femmes de ménage

Mme Perline Rahantamalala

Mlle Hantanirina Solo Rakotovao

Mme Eméline Rasamoelisoa

### Cantine

M. Jean Michel Solo Rabefaniraka  
M. Zakamanana Randrianjafy  
M. Gaëtan Emile Razafimarosoa

### Agents de sécurité

M. Manitra Rasaïa Rakotomandimby  
M. Joël Yvon Razafimanantsoa  
M. Alphonse Rakotonimaro  
M. Paul Randrianarison  
M. Emilson Rakotonirina  
M. Edmond Bienvenu Samiveloarilala  
M. Hary Lanto Andriamihaja  
M. Michel Robert Randrianarisoa  
M. Patrick Rakotondrabe  
M. Joël Mamitiana  
M. Joseph Robin Rabefaratiana  
M. Emile Randriamanantena  
M. Isidore Ramanantsoa  
M. Luc Anderson Rakotondrazaka  
M. Bernard Rafanilonirina  
M. Michaël Prosper Rakotoniaina  
M. Rijaniaina Hasinarivola  
M. Bernard Ratovoarisoa  
M. Narcisse Razafimahaleo

### Agents d'entretiens

M. Lemampandry Ramanandraivonona, incinérateur  
M. Johnny Rakotozafiniaina, mécanicien  
M. Josoa Rabemanantsoa, électricien en chef  
M. Germain Rakotomalala, plombier/électricien  
M. Patrick Razafindrabe, plombier/électricien  
M. Jules Rakotoarimanana, frigorifiste  
Mme Miarisoa Randrianarivelo  
M. Sanda Mahatoky Randrianimanana  
M. Jean Fête Rakotonirina, menuisier  
M. Tiana Rakotoniariovo, menuisier  
M. Rolland Augustin, soudeur  
M. Richard Rakotondrainibe, maçon, chef de travaux  
M. Eugène Rakotoasimbola, maçon  
M. Nanytsoa Randrianantenaina, maçon  
M. Josoa Rakotomandimby, maçon  
M. Jean Paul Rakotoarisoa, maçon

### Jardiniers

M. Gaby Rasolofonirina  
M. Philibert Ratsimbazafy  
M. Jacobson JM Andriamihaja  
M. Seth Rambeloson  
M. Elysé Randriamanantena  
M. Ignace de Loyola Randriamampianina  
M. Joseph José Rakotoniaina  
M. Florentin Randrianantenaina  
M. Pierre Dominique Ramahavalisoa  
M. Jonnah Bernard Rasolonirina

---

---

# ACTIVITES DE RECHERCHE

---

---

## **Considérations générales**

*Placé sous la tutelle du Ministère de la Santé Publique, l'Institut Pasteur de Madagascar met à la disposition des autorités sanitaires ses compétences dans le cadre de principaux axes de la Politique Nationale de Santé à Madagascar, tout en participant aux grandes interventions dans le domaine des maladies infectieuses.*

*Les recherches de l'Institut Pasteur de Madagascar sont des recherches appliquées aux priorités de santé publique locales. Dans chaque domaine, les résultats des activités menées par les différentes unités doivent permettre d'aboutir à des actions concrètes directement applicables sur le terrain et qui seront proposées aux autorités sanitaires.*

*Mais dans chaque domaine, ces résultats doivent aussi apporter, auprès de la communauté scientifique internationale, leur contribution pour une meilleure connaissance de la maladie, de son mode de transmission, et de ses conséquences en matière de morbidité et mortalité, de traitement et de prévention.*

*Pour mener à bien cette mission, les atouts de l'Institut Pasteur de Madagascar sont certains : compétence scientifique et technologies modernes certes, mais surtout implantation très ancienne et reconnaissance mutuelle auprès des autorités sanitaires, connaissance du terrain et confiance des populations, pérennité de cette présence au-delà d'épisodes épidémiques.*

*Ces atouts lui permettent de développer et d'entretenir des collaborations scientifiques fructueuses, basées sur un échange équilibré et un respect mutuel.*

*Si des domaines de recherche y sont principalement développés, paludisme, peste, tuberculose et maladies virales, d'autres thèmes peuvent être définis en fonction des circonstances épidémiologiques et des échanges d'idées entre scientifiques.*

***Ainsi activités de recherche et de santé publique se complètent et se renforcent mutuellement, au bénéfice de la santé des populations.***

## Activités et projets de recherche 2010

Activités et Projets de recherche	Unité Epidemio	Unité Viro	Unité Entomo	Unité Immuno	Unité myco	Unité Palu	Unité Peste	Unité Bilharziose	Financements		
	CBC	LHAE	LES								
Surveillance sentinelle	X	X	X			X					(USAID, DHHS, Global Fund, Ministère de la santé français)
Etude Campylo -Diarrhées	X	X							X	X	IPM
Diarrhées Cas/Témoin	X	X							X	X	Fondation TOTAL
Suivi - évaluation de la Distribution de Masse de Médicaments dans le cadre de la lutte contre les Maladies Tropicales Négligées								X			IPM (subvention Ministère de la Santé)
Enquêtes épidémiologiques : parasitologie et malacologie								X			IPM (subvention Ministère de la Santé)
Female Genital Schistosomiasis	X							X			OMS
Susceptibilité génétique aux infections mycobactériennes (TBGEN - PTR202)	X				X						PTR (IP)
Renforcement des capacités en essais cliniques tuberculose	X				X						EDCTP (UE)
Outils diagnostiques tuberculose					X						IPM
Tests moléculaires de résistance aux antituberculeux					X						Global Funds, Fondation Mérieux, IPM
Diversité des souches et nouvelles cibles thérapeutiques tuberculose					X						ANR-MIE
Diffusion Peste: vecteur			X				X				Wellcome Trust
Etude Réponse Immune (Peste) climat et santé (Peste)	X		X	X			X				IPM
Amélioration outils diagnostic de la peste							X				Wellcome Trust
Evaluation de la performance des 4 kits immunochromatographiques pour la détection de la troponine Ic									X		IPM
Infection maternofoetale - Projet JEREMI	X								X		Jeremi, IPM
Typage enzyme BLS en portage pédiatrique (en milieu communautaire et hospitalier)									X		IPM
Amélioration des outils diagnostic de la cysticercose				X							IPM
Physiopathologie du paludisme grave				X	X						IPM
Relation métabolisme calcique et chimiorésistance de P.falciparum				X	X						IPM
Collecte d'isolat pour QC d'outil de diagnostic					X						OMS
Evaluation de l'efficacité thérapeutique d'antipaludique					X						Fonds mondial, IPM
Biodiversité phylogéographie et dynamique évolutive de vecteurs d'arboviroses			X								ACIP
Fièvre de la vallée du Rift : RIFT OI		X	X								CRVOI
Inventaire des vecteurs de peste en zone selvatique			X								CRVOI/Faune Sauvage
Elevage de vecteurs (moustiques et puces) en insectarium			X								IPM
Investigations et indicateurs autour des cas déclarés de maladies vectorielles	X	X	X			x					FAO, IPM,
Suivi - évaluation de campagnes d'aspersions intradomiciliaires d'insecticides			X								RTI
Renforcement des capacités pour combler les lacunes entre la recherche/développement et mise en œuvre des interventions de lutte contre les vecteurs			X								Fondation Bill & Melinda Gates, OMS
Evaluation de nouveaux insecticides pour la lutte antivectorielle			x								PROCHIMAD, OMS
Evaluation de l'utilisation des moustiquaires imprégnées sur la transmission du paludisme			x								IDE-JETRO
Amélioration outils diagnostic des maladies de la crevette									X		AFD
Plan national de surveillance des maladies de la crevette									X		AFD, Etat malgache
Plan national de surveillance épidémiologique de <i>Vibrio parahaemolyticus</i>									X	X	Autorité Sanitaire Halieutique (ASH)
Caractérisation moléculaire de <i>Vibrio nigripulchritudo</i>									X		AFD
Surveillance et réponse à la grippe pandémique	X	X									CDC
Etiologies virales des Syndrome de détresse respiratoire aiguës (CENHOSOA et Moaramanga)	X	X									CDC
Facteurs associés à la sévérité des infections par les virus grippaux dans les pays en développement	X	X			X			X			IMMI
Virus et Chauves-souris		X									IPM/ Madagascar Voakajy
Surveillance animale de la Fièvre de la Vallée du Rift (FVR)		X	X								FAO
Recherche de réservoir sauvage du virus de la FVR		X	X								CIRAD, CRVOI
Arenavirus et Hantavirus chez des petits mammifères sauvages terrestres de Madagascar		X									ACIP/RIIP
Surveillance Paralysie Flasques Aigues (PFA)		X									OMS
Surveillance Rougeole		X									OMS
Recombinaison entre poliovirus et entérovirus humains du Groupe C		X									ANR-MIE

---

---

# PALUDISME

---

---

Les activités majeures entreprises par l'Unité de Recherche sur le Paludisme (URP) ou qui lui sont confiées depuis sa création en 1988 concernent principalement le diagnostic biologique du paludisme, la surveillance de l'efficacité thérapeutique des antipaludiques, et l'étude des supports moléculaires de la résistance des parasites aux médicaments. Sans être nommé "laboratoire de référence sur le paludisme", cette unité joue aussi le rôle de laboratoire de référence à Madagascar.

En 2010, en tenant compte de la politique de lutte contre le paludisme à Madagascar qui vise l'élimination de cette maladie en tant que problème de santé publique, les activités de l'URP ont été principalement axées sur "le diagnostic" au sens large. Malgré un effectif réduit, l'URP a assumé ses missions.

---

## DECOMPOSITION DU PROGRAMME

### ACTIVITES DE RECHERCHE

- 1- Détection des protéines PfHRP-II et Psp.HSP-70 dans le sang pour le diagnostic rapide du paludisme
- 2- Traitement antipaludique et "évolution" de la population de *Plasmodium sp*
- 3- Plantes antipaludiques : étude phylogénétique de *Cedrelopsis*

### ACTIVITE DE SANTE PUBLIQUE (voir page 77)

- Surveillance de la chimiosensibilité/résistance de *Plasmodium* à Madagascar
- Dépistage actif du paludisme chez les écoliers en appui aux districts de santé

### ASSURANCE QUALITE

- Assurer la qualité des tests de diagnostic rapide du paludisme utilisés ou destinés à être utilisés dans les centres sentinelles de surveillance des fièvres à Madagascar
  - Evaluer la performance des tests de diagnostic rapide du paludisme destinés à être utilisés dans le système de santé publique à Madagascar
  - Evaluer la performance des techniciens en microscopie pour la détection des plasmodies en particulier et des hématozoaires en général
-

## ACTIVITES DE RECHERCHE

### DÉTECTION DE PfHRP-II ET Psp.HSP-70 DANS LE SANG POUR LE DIAGNOSTIC RAPIDE DU PALUDISME

IPM : *M Randrianariveolosia, E Ravaoarisoa, M Jahevitra, S Razanatsiorimalala, R Raherinjafy*  
CERMES, Niger : *T Fandeur*  
Institut de recherche biomédicale des armées, Marseille : *T Fusai*  
IPP : *D Mattei, O Puijalon*

#### Financement

Institut Pasteur de Madagascar  
Fonds mondial : pour la collecte des isolats  
IPP : pour la 1<sup>ère</sup> partie effectuée à Paris en 2008

L'objectif du projet est d'évaluer la sensibilité et la spécificité des tests utilisant les anticorps monoclonaux anti-HSP-70 et anti-PfHRP-II dans la détection de l'infection palustre, en vue de développer un nouveau test de diagnostic.

Le diagnostic biologique est une des clés majeures dans la prise en charge des accès palustres. Les Tests de Diagnostic Rapide (TDR) sont de plus en plus utilisés dans les formations sanitaires sous les tropiques. L'URP a entrepris une étude de la reconnaissance des antigènes de *Plasmodium* par des anticorps monoclonaux recombinants pouvant servir à la production de nouveaux TDR performants. Les résultats préliminaires des ELISA sandwich réalisés à l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) (*E5A12 versus E5A12* biotinylé et *G4C17 versus G4C17* biotinylé) ont montré que l'épitope reconnu respectivement par *E5A12* et *G4C17* est unique. En ELISA compétitif, *C9C11* et *E5A12* ne reconnaissent pas les mêmes épitopes. Ainsi, les ELISA ont été réalisés avec les couples *C9C11/E5A12\** et *F1110/F1546\**.

L'évaluation de la spécificité et de la sensibilité de la détection des antigènes parasitaires par les 4 anticorps monoclonaux a été réalisée en utilisant la technique ELISA sandwich. Ainsi, 516 échantillons de sang, collectés chez des patients suspectés de paludisme ou présentant un accès palustre non-complicé détecté dans des Centres de Santé de Base (CSB), ont été utilisés (tableau I).

Les résultats des ELISA obtenus ont été comparés à ceux de CareStart<sup>TM</sup> (TDR basé sur la détection de HRP-II et pLDH recommandé par la politique nationale de lutte contre le paludisme à Madagascar). Cette étude montre que la corrélation observée avec le TDR Carestart<sup>TM</sup> est de 0,92 ( $\kappa = 0.96$ ). Ces indices sont encourageants et sont en faveur de la poursuite de l'étude sur les anti-

corps cités *in supra* pour la "conception" d'un nouveau TDR.

Tableau I : Espèces plasmodiales détectées dans les 516 échantillons étudiés

<i>Plasmodium</i> sp détectés	Méthodes de diagnostic standard utilisées		
	Microscopie	CareStart <sup>TM</sup>	PCR
Négatif	325	290	312
<i>P. falciparum</i>	181	220	173
<i>P. vivax</i>	6	6	6
<i>P. malariae</i>	1		0
<i>P. falciparum</i> + <i>P. vivax</i>	2	-	24
<i>P. Falciparum</i> + <i>P. malaria</i>	1	-	1

La réalisation de cette étude a permis d'acquérir les techniques de base nécessaires pour le clonage et l'expression des gènes. Ce projet arrive presque à terme. La rédaction de la thèse par l'étudiante ainsi que des publications complémentaires sont en cours.

En perspectives, en plus des projets sur la détection des antigènes pour le diagnostic du paludisme (infection active), la même démarche méthodologique devrait être utilisée pour mettre au point des bandelettes pour la détection des anticorps anti-plasmodiaux (anti-HRP ou anti-HSP par exemple). Des bandelettes détectant des anticorps seront utiles pour estimer le niveau de transmission de plasmodies notamment sur les Hautes Terres et les marges des Hautes Terres à Madagascar où parmi les stratégies de lutte pour l'élimination du paludisme, les moustiquaires et l'aspersion intra domiciliaires peuvent avoir des impacts majeurs et rapides.

### TRAITEMENT ANTIPALUDIQUE ET "ÉVOLUTION" DE LA POPULATION DE *PLASMODIUM SP*

IPM : *M Randrianariveolosia, V Andrianaranjaka, M Jahevitra, S Razanatsiorimalala, R Raherinjafy*

**Financement disponibles pour lancer le projet :** Fonds mondial (janvier à avril 2010) ; IPM

L'objectif du projet est de documenter **i**) la tendance du changement phénotypique (sensibilité/résistance) et génotypique (sur les marqueurs génétiques de la résistance) de *P. falciparum* et **ii**) le ratio *P. vivax/P. falciparum* à court terme après le retrait de la chloroquine et l'introduction de la combinaison fixe artésunate + amodiaquine dans le traitement des accès palustres non-complicés et le recours au traitement intermittent préventif par l'association sulfadoxine-pyriméthamine à Madagascar depuis 2006.

**Mesure de la sensibilité de *P. falciparum* à la chloroquine *in vitro*** : 104 isolats collectés dans différents sites appartenant au réseau national d'étude de la résistance des plasmodes ont été testés *in vitro* avec la technique isotopique établie dans l'URP [Randrianarivelojosa M et al. *S Afr Med J* 2004; 94 : 47]. La chloroquine (CQ) et la monodéséthylchloroquine (mdCQ) ont été testées parallèlement afin de classer les parasites en fonction du rapport CI50-mdCQ/CI50-CQ sachant que ce rapport est proportionnel à la résistance des parasites à la CQ [Kyle DE et al. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1990; 84 : 474]. Le compteur de radioactivité est tombé en panne, empêchant jusqu'à présent l'exploitation des résultats.

**Mesure de la sensibilité de *P. falciparum* à l'artésunate *in vitro*** : les 104 isolats cités ci-dessus ont également été testés contre l'artésunate. L'association des valeurs des CI50 avec le nombre de copies de *pfmdr1* et/ou aux mutations du gène *pfserca* sera recherchée. Ces mutations pourraient servir de marqueurs génétiques de la résistance aux dérivés de l'artémisinine, comme cela est suggéré par les résultats d'une étude récente dans laquelle l'Institut Pasteur de Madagascar a participé activement (voir ci-dessous le résumé de l'article et tableau II).

Tanabe K, Zakeri S, Palacpac NM, Afsharpad M, Randrianarivelojosa M, Kaneko A, Marma AS, Horii T, Mita T. Spontaneous mutations in the Plasmodium

*falciparum* sarcoplasmic/ endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase (PfATP6) gene among geographically widespread parasite populations unexposed to artemisinin-based combination therapies. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55 : 94-100.

Recent reports on the decline of artemisinin-based combination therapies (ACTs) efficacy pose serious threat in malaria control. The endoplasmic/sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase ortholog of Plasmodium falciparum (PfSERCA) has been suggested to be the target of artemisinin and its derivatives (artemisinins). It is assumed that continuous artemisinins' pressure will affect polymorphism of the PfSERCA gene (serca), if the protein is the target. Here, we investigate polymorphism of serca in parasite populations unexposed to ACTs to obtain baseline information for potential artemisinin-driven selection of resistant parasites. Analysis of 656 full-length sequences from 13 parasite populations in Africa, Asia, Oceania and South America revealed 64 SNPs, of which 43 were newly identified and 38 resulted in amino acid substitutions. No isolates showed L263E and S769N substitutions that were reportedly associated with artemisinin resistance. Among the four continents, the number of SNPs was highest in Africa. Distribution of SNPs remarkably differed between Africa/Asia/Oceania and South America. In Africa/Asia/Oceania, common SNPs with minor allele frequency  $\geq 0.05$  were low prevalent and most SNPs were continent-specific, whereas in South America, common SNPs were highly prevalent and often shared with Africa. Of 50 amino acid haplotypes observed, only one haplotype (3D7 sequence) was prevalent (64%) in all four continents. Forty-eight haplotypes were rare in frequency (< 5%), and 40 haplotypes were continent-specific. Geographical difference in diversity and distribution of serca SNPs and haplotypes lays the groundwork for assessing whether some artemisinin resistance-associated mutations and haplotypes are selected by ACTs.

Tableau II : Haplotypes des SNPs et acides aminés identifiés sur 656 séquences de *serca* de 14 populations de *P. falciparum*

	No. of SNPs					Amino acid haplotype			
	n	total	non synonymous	Rares	continent specific	Total no.	no. of rares	continent specific	Haplotype diversity (h)
Worldwide	656	64	38	61	50	50	48	40	0.579 ± 0.023
Africa	164	44	27	38	35	34	30	27	0.760 ± 0.033
Ghana	38	13	7	9	NA	9	5	NA	0.563 ± 0.094
Tanzania	69	31	18	26	NA	19	15	NA	0.771 ± 0.051
Malawi	38	14	10	7	NA	13	8	NA	0.801 ± 0.058
Madagascar	19	10	6	NA	NA	10	NA	NA	0.918 ± 0.036
Asia	214	21	10	15	9	17	15	8	0.581 ± 0.036
Iran	35	11	5	4	NA	7	2	NA	0.805 ± 0.032
Bangladesh	44	8	5	4	NA	7	4	NA	0.432 ± 0.091
Thailand	82	11	7	8	NA	9	7	NA	0.404 ± 0.068
Philippines	53	4	2	1	NA	4	1	NA	0.565 ± 0.040
Oceania	220	11	5	8	3	6	4	2	0.217 ± 0.036
PNG	89	9	5	7	NA	6	5	NA	0.211 ± 0.058
Solomon Islands	51	4	2	2	NA	2	1	NA	0.077 ± 0.050
Vanuatu	80	3	2	0	NA	2	0	NA	0.292 ± 0.055
South America	52	10	7	3	3	7	2	3	0.798 ± 0.024
Brazil	42	9	6	2	NA	6	1	NA	0.783 ± 0.035
Venezuela	10	4	2	NA	NA	2	NA	NA	0.200 ± 0.154

\*: isolats collectés avant l'introduction des ACT à Madagascar

**Comment évoluera le paludisme à *P. vivax* à Madagascar ?** L'élimination du paludisme est techniquement réalisable dans une grande partie de Madagascar mais des approches innovantes sont nécessaires pour assurer à la fois la prise en charge rapide et adaptée des infections palustres. La part du paludisme à *P. vivax* à Madagascar n'est pas négligeable [Joncour G. WHO 1956; 15 : 723]. Compte tenu du fait que la combinaison artésunate + amodiaquine n'atteint pas les hypnozoïtes et les formes intra-hépatiques de *P. vivax*, l'hypothèse suivante est avancée : "La stratégie de lutte contre le paludisme actuelle doit permettre d'atteindre une baisse significative des cas de paludisme à Madagascar dans les prochaines années. Mais parmi les cas restants, *P. vivax* prendra une proportion plus importante".

Pour tester cette hypothèse, 526 frottis sanguins réalisés par l'IPM en 1989 ont été examinés au microscope. Ces frottis ont été collectés après la campagne de pulvérisation au DDT et de chloroquinisation dans le village de Manarintsoa, à la fin de la période d'épidémie de paludisme. L'accès palustre confirmé parmi les cas suspects était de 3,8% (20/526). Cependant, parmi les quelques cas de paludisme restants, 53% (9/11) étaient dus à *P. vivax*. Ces résultats sont en accord avec l'hypothèse de travail.

Compte tenu des observations *in supra*, l'infection palustre à *P. vivax* pourrait représenter une proportion importante des infections plasmodiales au cours de la période de pré-élimination du paludisme. Ainsi, en perspective, il est nécessaire de mener des enquêtes régulières afin de surveiller la tendance des infections palustres à *P. vivax* (asymptomatique ou symptomatique) dans le but d'asseoir un choix stratégique vers un changement éventuel de politique de lutte visant l'élimination du paludisme. Sachant que *P. vivax* peut développer une forme quiescente du stade hépatique du parasite - hypnozoïte, qui peut se réveiller - l'élimination du paludisme à *P. vivax* nécessite notamment l'utilisation d'antipaludiques qui agissent sur le stade hépatique du parasite. Si le paludisme à *P. vivax* prédomine à Madagascar, il sera alors nécessaire de changer la politique de traitement des accès palustres. Dans un premier temps, "l'efficacité parasitologique" de la combinaison artésunate + amodiaquine sera évaluée dans le temps et dans l'espace contre les infections palustres associées à *P. vivax* avec la détection par PCR de la présence de *P. vivax* à J0, à J14 et J28. Aussi, il est important de conduire de nouvelles études comparatives afin de mesurer l'efficacité thérapeutique de la combinaison artésunate + amodiaquine *versus* dihydroartémisinine +

pipéraquline avec ou sans amino-8-quinoléine (antipaludique actif sur les stades hépatiques des plasmodies) dans le traitement des accès palustres à *P. vivax* et à *P. falciparum* dans les régions où *P. vivax* prédomine.

### Plantes antipaludiques : étude phylogénétique de *Cedrelopsis*

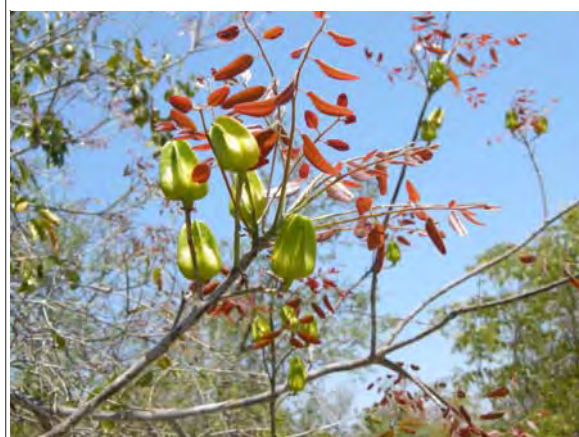
IPM : M Randrianariveolosia  
 CNARP : M Ratsimbason, A Rakotondrafa, S Rakotonandrasana  
 Université de Stockholm, Suède : S Razafimandimbison  
 Université d'Antananarivo, Madagascar : H Rabarison

**Financement :** Ministère français des Affaires Etrangères via projet Sud Expert Plante

Ce projet multidisciplinaire d'étude de "katrafay" a pour objectif d'évaluer l'activité antiparasitaire ou antibactérienne des extraits de *Cedrelopsis*, et de réviser la position taxonomique de ce genre endémique de Madagascar.

Connu du nord au sud à Madagascar communément sous le nom local katrafay, différentes espèces de *Cedrelopsis* sp (Rutaceae) sont utilisées depuis des siècles dans la médecine traditionnelle malgache pour le traitement des fièvres, incluant le paludisme. Au sein de l'URP, l'expérience et l'expertise de l'étude des plantes antipaludiques est conservée avec le souhait de fédérer des équipes malgaches qui travaillent sur les plantes médicinales. Les résultats antérieurs de l'URP sur *Cedrelopsis* ont permis d'isoler et d'identifier de nouvelles molécules de limonoïdes de *C. grevei* (figure 1), alors que ce genre est sensé ne pas en contenir [Mulholland DA. *Tetrahedron* 1999; 55 : 11547].

Figure 1 : *Cedrelopsis grevei* (Photo : Milijaona et Jean Claude 2010)



Ainsi, le projet "Cedrelopsis" a été rédigé en 2008 en vue de mieux comprendre pourquoi certaines espèces contiennent des limonoïdes [Mulholland DA et al. *Tetrahedron* 1999; 55 : 11547 - Mulholland DA et al.



*Phytochemistry* 2004; 65 : 2929] et d'autres pas [Koorbanally NA et al. *J Nat Prod* 2002; 65 : 1349 - Mulholland DA et al. *Phytochemistry* 2002; 61 : 919 - Randrianarivejosia M et al. *Bioch System Ecology* 2005; 33 : 301] ; et de pouvoir tester les extraits de l'écorce de *Cedrelopsis* contre *P. falciparum* *in vitro*, ce, en impliquant différents partenaires. Pour des raisons stratégiques, l'Université d'Antananarivo a été identifiée comme porteur du projet. Nous avons assuré la coordination des collectes de matériel végétal et l'envoi des échantillons en Europe pour le génotypage. La collaboration est productive. Les résultats de cette étude phylogénétique ont permis de répondre aux questions scientifiques sur la position taxonomique. Un premier article sur le positionnement de *Cedrelopsis* dans la famille des *Rutaceae* a été publié (résumé ci-dessous).

Razafimandimbison SG, Appelhans MS, Rabarison H, Haevermans T, Rakotondrafara A, Rakotonandrasana SR, Ratsimbason M, Labat JN, Kessler PJ, Smets E, Cruaud C, Couloux A, Randrianarivejosia M. Implications of a molecular phylogenetic study of the Malagasy genus *Cedrelopsis* and its relatives (*Ptaeroxylaceae*). *Mol Phylogenet Evol.* 2010;57(1):258-65. *Ptaeroxylaceae* is an Afro-Malagasy family containing three genera, *Bottegoa*,

*Cedrelopsis*, and *Ptaeroxylon*. Although the family is morphologically well delimited, it is currently considered part of the subfamily *Spathelioideae* in a broadly circumscribed orange family (*Rutaceae*). The Malagasy *Cedrelopsis* has traditionally been associated with different families of the order *Sapindales* and its phylogenetic placement in *Rutaceae sensu lato* has yet to be tested with molecular data. The present molecular phylogenetic study reaffirms the monophyly of *Ptaeroxylaceae* and its placement in *Spathelioideae*. Therefore, molecules and morphology support close affinities between *Bottegoa*, *Cedrelopsis*, and *Ptaeroxylon* and also their current generic circumscriptions. We report a case of an evolutionary change from one-seeded to two-seeded carpels within the *Harrisonia-Cneorum-Ptaeroxylaceae* clade of *Spathelioideae*. Finally, the sister-group relationship between the African *Bottegoa* and the Afro-Malagasy *Ptaeroxylon-Cedrelopsis* clade suggests an African origin of *Cedrelopsis*.

D'autres publications sont en cours de rédaction et des analyses plus fines sont nécessaires. Si la preuve est apportée qu'il s'agit d'une nouvelle espèce, il a été convenu qu'il reviendra au chercheur de l'URP de la nommer. L'activité antiplasmodiale *in vitro* des remèdes préparés avec l'écorce des différentes espèces de *Cedrelopsis* sera évaluée.

---

## ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

(voir page 77)

---

---

# ENTOMOLOGIE MEDICALE

---

---

*Identifier les vecteurs potentiels impliqués dans la transmission des infections, évaluer les risques de diffusion, tenter de mettre en évidence les interactions entre les différents acteurs (vecteurs, hommes, réservoirs et pathogènes) dans leur environnement pour mieux comprendre l'épidémiologie d'une maladie vectorielle sont les principaux thèmes de recherche menés par l'Unité d'Entomologie Médicale. La mise en œuvre de ces activités se fait à travers des projets multidisciplinaires menés soit en interne avec les différentes Unités de l'IPM (Peste, Paludisme, Virologie et Epidémiologie) soit 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, CIRAD, OMS, FAO, UNICEF, USAID, RTI).*

*En 2010, L'Unité d'Entomologie Médicale a poursuivi ses programmes de surveillance et d'investigations épidémiques concernant les vecteurs potentiels de la fièvre de la Vallée du Rift (RVF) à Madagascar. Mises en œuvre depuis 2008, les premières activités ont été réalisées en collaboration avec les unités d'épidémiologie et de virologie de l'IPM et des équipes de la Direction des Services Vétérinaires avec le soutien financier de la FAO. La même année, en partenariat avec le CIRAD et CRVOI, l'unité a également été associée à deux projets de recherche sur la RVF : RIFT-OI pour l'identification des vecteurs potentiels du virus de RVF (RVFV) en zone selvatique et ANIMAL-RISK où l'identification des vecteurs et leur rôle dans la transmission et/ou l'entretien du cycle de RVFV sont étudiés autour des cas confirmés et aux portes d'entrée de Madagascar.*

*La littérature rapporte peu de cas de circulation de peste en milieu forestier. Les études menées en 2009 montrent que la peste circule chez les micromammifères en l'absence cependant des puces vectrices *Xenopsylla cheopis* et *Synopsyllus fonquerniei*. L'intervention d'autres puces vectrices de peste dans ces forêts est donc probable. L'inventaire des puces selvatiques initié en 2009 a été reconduit en 2010 en élargissant les sites d'étude et en accueillant dans l'Unité un étudiant en DEA qui devrait à moyen terme mettre au point des outils d'identification moléculaire des espèces de puces selvatiques et étudier leur implication dans le cycle selvatique de la peste. D'autre part, une collaboration avec l'Université de Liverpool et l'accueil d'un étudiant en thèse ont permis d'étudier l'influence de la température et de l'humidité sur le développement et la survie de *Synopsyllus fonquerniei*.*

*Depuis 2006, le principe de l'élimination du paludisme a été adopté par les chefs d'Etat africains dont celui de Madagascar. Compte tenu de l'existence de différents faciès épidémiologiques au niveau du pays, des stratégies spécifiques sont appliquées dans chacun d'eux. En 2010, l'Unité d'entomologie médicale a coopéré avec le Ministère de la Santé avec un intérêt particulier pour le suivi des indicateurs de transmission afin d'adapter au mieux la lutte antivectorielle. Le suivi-évaluation des Campagnes d'Aspersions Intra-Domiciliaires (CAIDs) et de l'utilisation des moustiquaires imprégnées répond aux activités d'appui de l'Unité dans le cadre des collaborations avec les acteurs de Santé Publique. D'autre part, l'Unité d'Entomologie Médicale est nommée «Unité Nationale de Référence» depuis 2008 avec comme partenaire, le Service d'Entomologie du Ministère de la Santé Publique dans le cadre d'un projet qui dure quatre années sur la surveillance des vecteurs du Paludisme et de leurs sensibilités aux insecticides dans sept pays africains.*

*Enfin, membre du Comité Roll Back Malaria (RBM) du sous-comité Surveillance Entomologique du programme NSA (National Strategy Applications) intitulé "Demandes basées sur les stratégies nationales" et du Comité de pilotage de la lutte contre la Fièvre de la Vallée du Rift, l'Unité d'Entomologie Médicale propose son expertise et participe activement à l'organisation des systèmes d'alerte et de surveillance des épidémies de paludisme et d'arboviroses de Madagascar.*

# DECOMPOSITION DU PROGRAMME

## ACTIVITES DE RECHERCHE

### 1- Vecteurs d'Arbovirose

- Programme de Coopération Scientifique sur les maladies animales émergentes dans l'Océan Indien [ANIMALRISK] : études entomologiques
- Fièvre de la Vallée du Rift dans l'Océan Indien : vecteurs impliqués dans la transmission du FVR en zone selvatique [RIFT-OI]

### 2- Vecteurs du Paludisme

- The experimental intervention study on poverty reduction : impact evaluation of Olyset Net in Madagascar [IDE-JETRO]

### 3- Vecteurs de la peste

- Etude de l'effet de la température et de l'humidité sur le développement des puces de rat, *Synopsyllus fonquerniei* et *Xenopsylla cheopis*, vecteurs principaux de la peste à Madagascar
- Inventaire des ectoparasites récoltés sur les petits mammifères en forêt

### 4- Elevage de vecteurs en insectarium

- *Aedes albopictus*, *Anopheles arabiensis* et *Culex quinquefasciatus*
- *Xenopsylla cheopis* et *Synopsyllus fonquerniei*

## ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE (voir page 82)

### 1. Arboviroses :

- Investigations entomologiques lors de l'épidémie de Chikungunya à Toamasina
- Investigations entomologiques suite à une déclaration de cas de FVR à Toliara

### 2. Paludisme :

- Suivi entomologique de la Campagne d'Aspersion Intradomiciliaire d'Insecticide (CAID) dans 3 villages des Hautes Terres Centrales (HTC) de Madagascar
- Dose d'application, rémanence et efficacité d'insecticide, pour la lutte antivectorielle à Madagascar

### 3. Elaboration de projets et perspectives :

- Site de surveillance paludisme
-

# ACTIVITES DE RECHERCHE

## VECTEURS D'ARBOVIROSES

**PROGRAMME DE COOPÉRATION SCIENTIFIQUE SUR LES MALADIES ANIMALES ÉMERGENTES DANS L'OCÉAN INDIEN [ANIMALRISK] : ETUDES ENTOMOLOGIQUES**

**Porteur du projet :** CIRAD Direction régionale de La Réunion  
**IPM :** - Unité d'Entomologie Médicale : N. Elissa, L. Andrianaivolambo

- Unité de Virologie : cf rapport annuel

**CIRAD :** - E. Cardinale, M.-M. Olive (coordonnatrice du projet)

**DSV :** - V. M. Rakotoharinome, DSV, point focal du projet Animal Risk à Madagascar

**Université d'Antananarivo,** Département d'Entomologie : Accueil à l'IPM de deux étudiants en DEA (en attente de financement)

**Financement :** FEDER, Région OI, Etat Français

L'objectif général du projet vise à maîtriser les risques zoo-sanitaires dans l'Océan Indien à la fois pour préserver la santé des populations exposées aux zoonoses et l'élevage des animaux de rente, des maladies enzootiques et épizootiques et atténuer l'impact économique négatif de celles-ci (cf rapport annuel d'activité 2009).

En 2008, une campagne de prélèvements a été réalisée à Madagascar afin de connaître la répartition de certaines maladies jugées prioritaires (pestes aviaires, pestes porcines, fièvre de West Nile FWN et fièvre de la Vallée du Rift FVR) dans certaines régions du pays. Cette première action a permis de définir la FVR comme une maladie prioritaire. La seconde action du projet, a pour objectifs d'étudier les risques de diffusion spatio-temporelle de la maladie en utilisant notamment un modèle d'analyse de risque.

Dans ce volet, un des objectifs spécifiques est de mieux comprendre les causes de la dernière épizootie à Madagascar. Pour cela, deux activités sont menées :

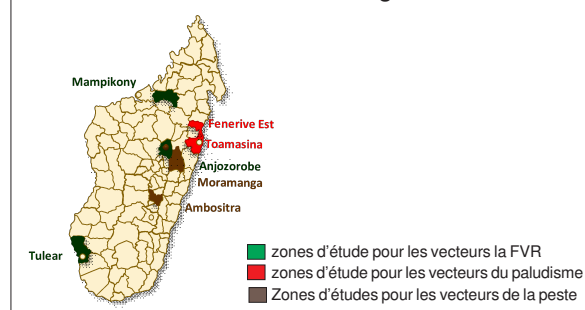
- une étude longitudinale d'un an dans les zones de Mampikony et de Toliara (figure 1). Deux étudiants vétérinaires assurent la collecte d'informations dans les deux zones. Cette étude longitudinale est menée conjointement avec une étude entomologique permettant de connaître le rôle des vecteurs dans la transmission et le maintien de la FVR. En raison du retard de financement des études entomologiques, une seule mission par site a pu être réalisée en 2010.

- Une enquête au niveau des marchés de bovins approvisionnant les abattoirs d'Antananarivo. L'étude sur les flux commerciaux apportera des connaissances

sur la diffusion potentielle de la FVR sur le territoire.

Dans ce rapport, seuls les résultats entomologiques sont présentés.

Figure 1 : Sites d'étude pour les programmes de recherche de l'Unité d'Entomologie Médicale



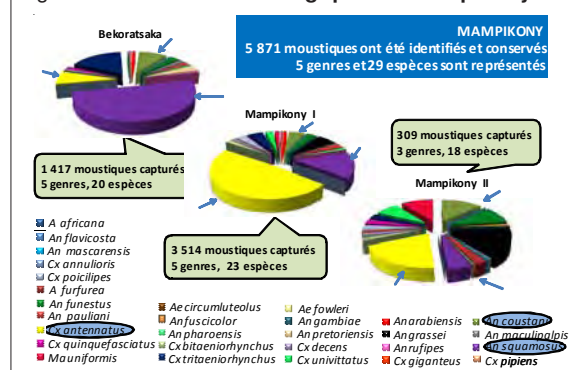
### Résultats des missions

A Toliara et à Mampikony, les captures de moustiques ont été réalisées durant une ou deux nuits en fonction des sites, sous double moustiquaires appâtées et à l'aide de pièges lumineux type CDC. Après récolte des moustiques le matin, une identification et un comptage des moustiques piégés ont été effectués.

### Mampikony

Les sites d'étude comprennent trois communes du district de Mampikony à savoir les communes de Mampikony I, II et Bekoratsaka.

Figure 2 : Faune entomologique de Mampikony



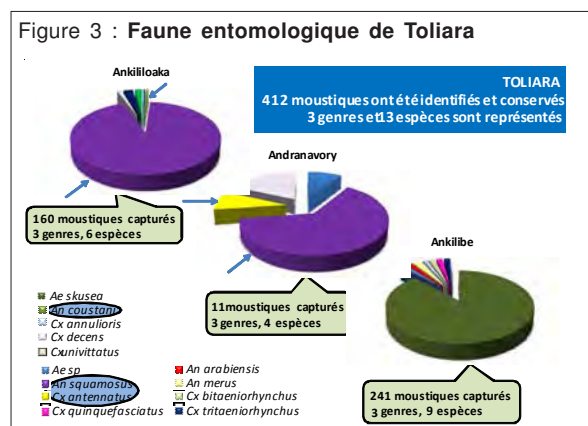
Des captures ont été réalisées pendant 2 nuits dans les deux premiers sites (Bekoratsaka et Mampikony I) et une nuit dans le dernier site (Mampikony II). Trois types de capture ont été mis en place à proximité des élevages faisant l'objet du suivi : i) captures sous double-moustiquaires (DM) avec un appât (chèvre, mouton ou veau), ii) pièges lumineux (PL) et iii) puits de Muirhead-Thomson (PMT). Suite à la collecte, l'identification et le comptage des moustiques réalisés sur les sites le lendemain des captures, les spécimens regroupés en lots monospécifiques ont été conservés dans l'azote

liquide en attente des analyses virologiques. Au total, sur les 3 sites étudiés, 5 871 moustiques appartenant à 5 genres et 29 espèces ont été identifiés et conservés (figure 2).

### Toliara

Pour la région d'Atsimo Andrefana, les districts de Toliara I et II ont été choisis comme sites d'études avec les communes d'Ankililoaka, Andranavory et Ankilibe concernées directement.

En raison du temps imparti à la mission, une seule nuit de capture par site a pu être réalisée avec 2 types de capture mis en place à proximité des élevages suivis : captures sous DM avec un appât animal (chèvre, mouton ou veau) et PL. La capture au moyen des PMT n'a pu être effectuée à cause du sol sablonneux. Suite à la collecte, l'identification et le comptage des moustiques sur les sites le lendemain des captures, les spécimens ont été conservés dans des tubes placés dans l'azote liquide en attente des analyses virologiques. Au total 412 moustiques ont été identifiés et conservés. Trois genres et 13 espèces sont représentés dans les 3 sites étudiés (figure 3).



### FIÈVRE DE LA VALLÉE DU RIFT DANS L'OCÉAN INDIEN : VECTEURS IMPLIQUÉS DANS LA TRANSMISSION DE RVF EN ZONE SELVATIQUE [RIFT-OI]

Porteur du projet : CIRAD

Instituts partenaires : IPM, Association Internationale "Vahatra" (Madagascar), IRD (Montpellier), FOFIFA-DRZV (Madagascar)

IPM : - Unité d'Entomologie Médicale : L. Tantely (Thèse), L. Andrianaivolambo, J.C. Rakotoniaina, E. Tata, N. Elissa  
- Unité de Virologie : cf rapport annuel

Financement : Appel à projet de recherche 2008 CRVOI

### Contexte

Dans le cadre du Projet RIFT-OI, 11 espèces d'arthropodes impliqués, d'après la littérature, dans la transmission du virus de la FVR ont été recensées dans la commune d'Ambongamarina au cours de l'inventaire

entomologique effectué entre novembre 2008 et juin 2009. Parmi ces espèces : *Ae. circumluteolus* ; *An. coustani*, *An. squamosus/cydippis*, *Cx. pipiens*, *Cx. antennatus* *Cx. univittatus* ; *Cx. poecilipes* et *Mansonia uniformis* ont déjà été décrites infectées naturellement en Afrique et à Madagascar (Clerc *et al.*, 1981 ; Fontenille, 1989 ; Diallo *et al.*, 2005 ; Sang *et al.*, 2010 ; Ratovonjato *et al.*, 2010).

L'objectif de la deuxième année d'étude a été l'étude de la dynamique des moustiques potentiellement vecteurs du virus de la FVR dans trois écozones (forêt primaire, lisière et village) représentant différentes conditions écologiques des Hautes Terres Centrales Malagasy. Ces données seront utiles pour élucider les voies de transmission du RVFV et identifier l'importance relative des différents paramètres du cycle de transmission.

### Les sites d'étude

L'étude s'est déroulée dans les mêmes sites pilotes de la première année du projet RIFT-OI : forêt d'Anorana, village d'Anorana (lisière de la forêt) et village d'Antanifotsy (figure 1 : carte).

L'étude de la dynamique et de la préférence trophique des moustiques a été effectuée sur les espèces trouvées très abondantes dans les sites d'étude et déjà décrites infectées naturellement par le virus de la FVR dans la littérature (tableau I).

Tableau I : Espèces présentant un intérêt particulier dans la transmission du virus FVR à Madagascar

Genres espèces	inf./nat.	Lieu / année / référence
<b>Anopheles</b>		
<i>coustani</i>	Oui	Madagascar (2008-09) : Ratovonjato <i>et al.</i> , 2010 Autre localité : in Diallo <i>et al.</i> , 2005
<i>squamosus</i>	Oui	Kenya (2006-07) : Sang <i>et al.</i> , 2010; Madagascar (2008-09) : Ratovonjato <i>et al.</i> , 2010
<b>Culex</b>		
<i>pipiens</i>	Oui	
<i>antennatus</i>	Oui	Madagascar : Ratovonjato <i>et al.</i> , 2010
<i>univittatus</i>	Oui	Kenya (2006-07) : Sang <i>et al.</i> , 2010

### Inventaire entomologique

L'inventaire entomologique des espèces de moustiques vecteurs potentiels a été réalisé par plusieurs méthodes de captures.

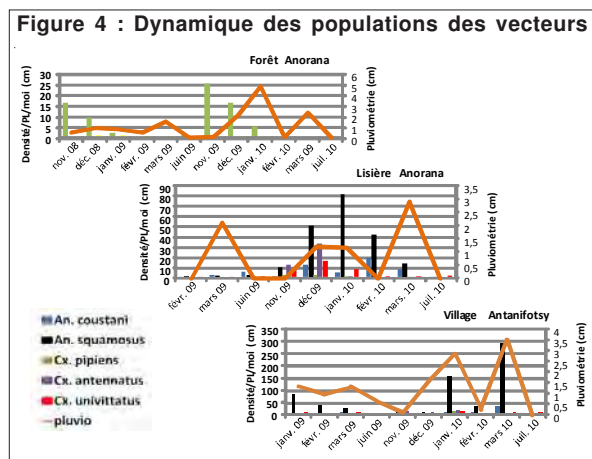
### Dynamique des populations des vecteurs

Les captures réalisées à l'aide des pièges lumineux de type CDC ont été plus abondantes en saison de pluie qu'en saison sèche (figure 4).

Dans la forêt humide d'Anorana, les résultats des deux années d'étude montrent que la densité des populations des moustiques est fortement liée à la présence

de *Cx. pipiens pipiens* qui possède les mêmes variations saisonnières pendant les deux années d'études. Ses effectifs diminuent au cours de la saison des pluies jusqu'à la saison sèche.

Dans les deux villages, cette densité est liée à celle d'*An squamosus/cydippis* dont la densité de population est très élevée au milieu de la saison pluvieuse.



### Comportements trophiques

L'étude d'attractivité d'hôte vis-à-vis des vecteurs potentiels a été réalisée à l'aide de systèmes double-moustiquaires appâtées de zébus, d'hommes, de volailles et de moutons.

La détermination de l'origine du repas de sang des femelles capturées dans des puits de Muirhead Thomson a été réalisée par ELISA.

### Détermination de la parité

Des dissections des ovaires ont été effectuées pour l'étude de leurs taux de parité et l'estimation de leur taux de survie journalière.

### Etude complémentaire

Un étude morphologique et moléculaire d'une nouvelle espèce d'*Orthopodomyia sp*, capturée pendant la première et la deuxième années d'étude a été réalisée au sein de l'IRD Montpellier par l'étudiant en thèse chargé de cette recherche.

### Perspectives pour la 3<sup>ème</sup> année

Les travaux prévus sont :

- détection du virus de la fièvre de la Vallée du Rift dans les moustiques capturés pendant la première année d'étude, dans le cadre d'un **Projet interne** intitulé "Virus de la fièvre de la Vallée du Rift et population naturelle des moustiques à Madagascar" : mise au point de cette détection par RT-PCR à partir de superpools (en cours)
- analyse des trois années d'étude
- rédaction de publications et de la thèse.

## VECTEURS DU PALUDISME

### THE EXPERIMENTAL INTERVENTION STUDY ON POVERTY REDUCTION: IMPACT EVALUATION OF OLYSET NET IN MADAGASCAR [IDE-JETRO]

*IPM* : N Elissa, J Ratovonjato, L Andrianaivolambo, JC Rakotoniaina, E Tata

*Financement* : The Institute of Developing Economies (IDE-JETRO)

### Contexte

En marge de l'exploitation minière "du projet de Madagascar Ambatovy" financé par "Sumitomo Corporation", actuellement le plus grand investissement mis en place par les compagnies japonaises en Afrique, IDE-JETRO finance une étude de l'impact de moustiquaires imprégnées Olyset contre le paludisme. Les études existantes ont montré que les moustiquaires imprégnées Olyset (LLIN, Long Lasting Insecticide impregnated net) sont efficaces pour réduire l'incidence et la mortalité dues au paludisme. Cependant, aucune étude n'a été menée pour décrire les impacts socio-économiques des moustiquaires Olyset, tels que des changements concernant les charges médicales, les inscriptions scolaires, l'absentéisme, ou tout autre activité intra-ménage et/ou extra-ménage.

**L'objectif général** du projet (cf. Rapport annuel d'activités 2009) vise à étudier l'impact de LLIN sur la pauvreté. C'est un projet de recherche multidisciplinaire couvrant différents champs tels que des sciences économiques, la sociologie, l'épidémiologie, et l'entomologie (ce dernier volet étant assuré par l'unité d'entomologie médicale de l'IPM).

### Objectifs spécifiques

Evaluer les paramètres entomologiques liés à la transmission du paludisme dans deux zones différentes: zones où des LLIN ont été distribuées en octobre 2009, avant le début de l'étude (Toamasina II, région d'Atsinanana) et zones où des LLIN ont été distribuées en octobre 2010, après le début de l'étude (Fenerive Est, région d'Analanjirifo), à deux périodes différentes.

### Sites d'études (figure 1)

Huit Fokontany (FKTs) : Rond Point, Sahamandotra et Ambalahasina, district de Toamasina II, région d'Atsinanana, dotés de moustiquaires imprégnées en novembre 2009 et Namahoaka, Anivorano, Marovato, Tanambao Fanifarana et Ambodibonara, district de Fenerive Est, région d'Analanjirifo, dotés de moustiquaires imprégnées en novembre 2010, ont été choisis pour mener l'étude entomologique. Ce sont les mêmes villages où les enquêtes de ménage ont été effectuées.

## Résultats préliminaires

Tableau II : Espèces culicidiennes (femelles) capturées sur homme sous double moustiquaires et à l'aide de pièges lumineux, dans les villages dotés de moustiquaires avant étude

	Ambalahasina I		Ambalahasina II		Rond point		Sahamandrotra		Total		% sp		%gen	
	Août	Déc	Août	Déc	Août	Déc	Août	Déc	Août	Déc	Août	Déc	Août	Déc
<i>Ay africana</i>	1	1	8				25		34	1	3,01	0,21	4,08	0,21
<i>furfurea</i>							2		2		0,18			
<i>sp</i>					10				10		0,89			
<i>Ae albopictus</i>		1					1	1	1	2	0,09	0,42	0,09	0,42
<i>argenteopunctatus</i>													24,73	60,29
<i>An arabiensis</i>														
<i>brunnipes</i>	3		10		1		2		16		1,42			
<i>coustani</i>	13		5		23		23	4	64	4	5,67	0,83		
<i>flavicosta</i>	4		15		3		9		31	4	2,75	0,83		
<i>gambiae ss</i>	5	65	4	6	6	9	8	<b>186</b>	<b>23</b>	<b>266</b>	2,04	<b>55,3</b>		
<i>gambiae sl</i>					1			1	1	1	0,09	0,21		
<i>maculipalpis</i>								11		11		2,29		
<i>mascaren</i>	4		27		2		<b>103</b>		<b>136</b>		<b>12,06</b>			
<i>Pauliani / radama</i>		3		1			8		8	4	0,71	0,83		
<i>pretoriensis</i>														
<i>squamosus / cydippis</i>														
<i>Cq grandidieri</i>							4		4		0,35		0,35	0,62
<i>rochei</i>								1		1		0,21		
<i>sp</i>								2		2		0,42		
<i>Cx antennatus</i>	5	5	13	6	2	4	6	7	26	22	2,3	4,57	10,11	9,98
<i>argenteopunctatus</i>					1		1		1		0,09			
<i>bitaeniorhynchus</i>	2		3		1		5	5	11	5	0,97	1,04		
<i>carleti</i>	1								1		0,09			
<i>decens</i>	3		5	1	1	1	12	4	21	6	1,86	1,25		
<i>giganteus</i>	2		1				2		5		0,44			
<i>quinquefasciatus</i>	10		15			13			38		3,37			
<i>tritaeniorhynchus</i>		1	1	10					1	11	0,09	2,29		
<i>univittatus / neavei</i>			6	1				1	6	2	0,53	0,42		
<i>sp</i>			1	1			3	1	4	2	0,35	0,42		
<i>sp2</i>														
<i>Manuniformis</i>	77	9	43	26	206	51	348	50	674	136	59,75	28,27	59,75	28,27
<i>Ur sp</i>			6		1		3	1	10	1	0,89	0,21	0,89	0,21
<b>Total</b>	<b>130</b>	<b>85</b>	<b>164</b>	<b>54</b>	<b>271</b>	<b>65</b>	<b>564</b>	<b>277</b>	<b>1129</b>	<b>481</b>				

Effort de capture : 12 captureurs/nuits, 2 nuits/site, soit 24 homme-nuits de capture par village et 96 homme-nuits au total

	Ambalahasina I		Ambalahasina II		Rond point		Sahamandrotra		Total	
	août	déc	août	déc	août	déc	août	déc	août	déc
mois										
nb nuits	2	2	2	2	2	2	2	2	8	8
nb captureurs	24	24	24	24	24	24	24	24	96	96
ma (culicinae)	5,42	3,54	6,79	2,25	11,29	2,71	23,5	11,54	11,8	5,01

Tableau III : Espèces culicidiennes (femelles) capturées sur homme sous double moustiquaires et à l'aide de pièges dans les villages non dotés de moustiquaires avant étude

	Ambodibonara		Anivorano		Marovato		Namahoaka		Tanambao Fanifarana I		Tanambao Fanifarana II		Total		% sp		%gen	
	Août	Déc	Août	Déc	Août	Déc	Août	Déc	Août	Déc	Août	Déc	Août	Déc	Août	Déc	Août	Déc
<i>Ay africana</i>	4								8	2	4		16	2	1,5	0,39	1,78	0,39
<i>furfurea</i>									1				1		0,09			
<i>sp</i>					1		1						2		0,19			
<i>Ae albopictus</i>					1	1	1						2	1	0,19	0,19	0,38	0,78
<i>argenteopunctatus</i>	1	3					1						2	3	0,19	0,58		
<i>An arabiensis</i>																	42,21	66,34
<i>brunnipes</i>	1		3	1	3						1		8	1	0,75	0,19		
<i>coustani</i>	106	31	14	1	20	5	7		15	2	4	3	166	42	15,57	8,17		
<i>flavicosta</i>	36	1	6	1	5				6		3		56	2	5,25	0,39		
<i>gambiae ss</i>	20	132	11	34	7	33	10	33	36	17	14	4	98	253	9,19	49,22		
<i>gambiae sl</i>							1						1		0,09			
<i>maculipalpis</i>	3												3		0,28			
<i>mascaren</i>	29	1	52		12				10		5		108	1	10,13	0,19		
<i>pauliani / radama</i>	5	12	1	4		5	3						6	24	0,56	4,67		
<i>pretoriensis</i>			2										2		0,19			
<i>squamosus / cydippis</i>	2	9		2		7							2	18	0,19	3,5		
<i>Cq grandidieri</i>	1												1		0,09		0,38	0,97
<i>rochei</i>	2			1									3		0,28			
<i>sp</i>		1							3				5		0,97			
<i>Cx antennatus</i>	29	18	10	6	3	9	1	2	18	9	13	2	74	46	6,94	8,95	15,01	15,18
<i>argenteopunctatus</i>							1			1			1	1	0,09	0,19		
<i>bitaeniorhynchus</i>	1		3		1		1		4		2		7	5	0,66	0,97		
<i>carleti</i>							1						1		0,19			
<i>decens</i>	33	7	15	2	1		1		1	1	1		52	10	4,88	1,95		
<i>giganteus</i>	4		1	1					1				6	1	0,56	0,19		
<i>quinquefasciatus</i>	3		7	1	1	3		2	4		1		16	6	1,5	1,17		
<i>tritaeniorhynchus</i>					1					5		1	7		1,36			
<i>univittatus / neavei</i>	1												1		0,19			
<i>sp</i>			2		1								3		0,28			
<i>sp2</i>											1		1		0,09			
<i>Manuniformis</i>	150	24	95	5	8	6	23	17	104	25	46	3	426	80	39,96	15,56	39,96	15,56
<i>Ur sp</i>		1			2	2			1	1			3	4	0,28	0,78	0,28	0,78
<b>Total</b>	<b>430</b>	<b>241</b>	<b>219</b>	<b>61</b>	<b>64</b>	<b>73</b>	<b>49</b>	<b>59</b>	<b>209</b>	<b>66</b>	<b>95</b>	<b>14</b>	<b>1066</b>	<b>514</b>				

Nombre Mois	nuits		captureurs		ma (culicinae)	
	août	déc	août	déc	août	déc
Ambodibonara	2	2	24	24	17,92	10
Anivorano	2	2	24	24	9,13	2,54
Marovato	2	2	24	24	2,67	3,04
Namahoaka	2	2	24	24	2,04	2,46
Tanambao						
Fanifarana I	2	2	24	24	8,71	2,75
Tanambao						
Fanifarana II	2	2	24	24	3,96	0,58
Total	12	12	144	144	7,4	3,57

Un total de 40 nuit de captures sur homme sous doubles moustiquaires (à l'intérieur et à l'extérieur) a été effectué dans les villages en août et en décembre 2010. Deux jour-collections de moustiques au repos à l'intérieur des maisons par pyréthrage et dans des puits de Muirhead Thomson avec aspirateur ont été exécutées dans chaque village, à chacune des périodes d'étude. Les densités des moustiques par village pour les deux périodes sont reportées dans les tableaux II et III.

En août 366 vecteurs ont été capturés tandis qu'en décembre 521 vecteurs ont été collectés.

## Discussion

Cette étude a été effectuée à deux périodes différentes : en août qui correspond à la saison sèche à Madagascar et en décembre correspondant au début de la saison des pluies.

Tous les anophèles du complexe *gambiae* capturés lors de cette étude ont été identifiés par PCR, et tous à l'exception de quelques spécimens ont été identifiés comme *An. gambiae ss*.

Les résultats montrent une grande variation dans la distribution des vecteurs entre les deux périodes. En août, les captures étaient deux fois plus productives que ceux de décembre. Cependant, le nombre de vecteurs est plus important au début de la saison de pluies: en décembre, 267 et 254 vecteurs ont été capturés dans les villages avec et sans LLIN respectivement comparés à 161 et à 207 en août.

En outre, nous notons la quasi-disparition d'*An. mascarensis* (seulement deux capturés en décembre comparé à 244 en août) en faveur de l'augmentation d'*An. gambiae ss* (110 en août comparé à 520 en décembre). Les analyses complémentaires sont en cours.

## VECTEURS DE LA PESTE

ETUDE DE L'EFFET DE LA TEMPÉRATURE ET DE L'HUMIDITÉ SUR LE DÉVELOPPEMENT DES PUCES DE RAT, *SYNOPSISYLLUS FONQUERNIEI* ET *XENOPSYLLA CHEOPIS*, VECTEURS PRINCIPAUX DE LA PESTE À MADAGASCAR

Instituts partenaires : Université de Liverpool : Dr M Baylis  
IPM : Unité d'Entomologie Médicale : T Ramihangihajason, N Elissa

## Financement : Projet interne IPM

## Contexte

A Madagascar, la peste persiste depuis plus de 100 ans. La zone d'endémie pesteuse se situe essentiellement au dessus de 800 m d'altitude, sur les Hautes Terres. La peste humaine y est saisonnière et *Yersinia pestis*, l'agent causal est transmis par deux espèces de puces de rat, *Synopsyllus fonquerniei* endémique à Madagascar (Wagner et Roubaud, 1932) et *Xenopsylla cheopis* (Rothschild, 1903). *X. cheopis* est largement reparti sur tout le territoire Malgache tandis que *S. fonquerniei* se trouve sur les hautes terres et sa distribution coïncide avec celle des cas ruraux de peste humaine (Duchemin 2003). Si les deux espèces de puces coexistent dans les hautes terres, elles occupent néanmoins des niches différentes : *X. cheopis* se trouve sur des rats capturés à l'intérieur des maisons, tandis que *S. fonquerniei* est présent sur des rats à l'extérieur.

De récentes études de terrain ont montré que l'abondance et la répartition par âge pour les deux espèces varient chaque année (K Kreppel & S Telfer, données non publiées). Ceci pourrait être corrélé à la saisonnalité des cas de peste humaine enregistrés. Il est connu que la température et l'humidité sont des facteurs importants dans le développement et la survie des puces (Krasnov *et al.*, 2001; Sharif, 1949). Les contraintes climatiques peuvent expliquer les changements au cours de l'année dans l'abondance et la structure par âge ainsi que les différences dans leur distribution. Au cours de ce projet l'effet de la température et de l'humidité sur le développement des deux espèces a été étudié, en termes de taux de développement larvaire et nymphal ainsi que de taux de survie dans des conditions expérimentales.

## Objectifs généraux

- Etudier l'effet de la température et de l'humidité sur le développement et la survie des différents stades de la puce endémique à Madagascar, *S. fonquerniei*.
- Etablir l'existence éventuelle de différence significative des taux de développement et de survie entre les deux espèces de puces, *S. fonquerniei* et *X. cheopis*.

## Objectifs spécifiques

- Déterminer les taux de développement en fonction de températures diverses à deux humidités différentes qui représentent les deux saisons (90% moyenne de la saison de pluie et 85% moyenne de la saison sèche), et établir les limites du développement de *S. fonquerniei* dues aux conditions climatiques.



- Identifier le taux de survie des larves des deux espèces, *S. fonquerniei* et *X. cheopis*, en fonction de températures diverses aux taux d'humidité précités.

- Evaluer l'effet des variations de température à deux humidités différentes comme observé dans la nature dans les terriers de rats, sur le développement et la survie des deux espèces de puces *S. fonquerniei* et *X. cheopis*.

- Proposer un modèle mathématique permettant d'évaluer le temps de développement des puces dans les conditions naturelles (température fluctuante et humidité constante).

## Résultats préliminaires

Les temps de développement et les taux de mortalité diffèrent significativement entre les deux espèces. *S. fonquerniei* a mis 1,79 fois plus de temps pour achever son développement et le taux de mortalité était de 43% plus élevé que celui de *X. cheopis*. D'après les analyses statistiques, les larves de *S. fonquerniei* cessent de se développer à 9°C tandis que celles de *X. cheopis* arrêtent leur développement à 12,5°C. Le taux de mortalité des larves de *S. fonquerniei* est 0,43 fois plus élevé que celui de *X. cheopis* ; l'analyse de survie a montré que même si de nombreuses larves de *S. fonquerniei* ne se nymphosent pas, elles survivent plus longtemps que *X. cheopis*. Les courbes de croissance ajustées aux données suggèrent une adaptation de *S. fonquerniei* aux conditions climatiques des hautes terres où cette espèce domine parmi les puces de rongeurs vivants en "extradomiciliaire". Ces résultats constituent une étape importante dans la compréhension de l'écologie des vecteurs principaux de la peste à Madagascar.

## Discussion

Le développement des larves des vecteurs de la peste est dépendant à la fois de l'humidité et de la température. Il existe des différences significatives entre les espèces : *S. fonquerniei* supporte un climat plus froid et sec. Ces résultats sont cohérent avec une augmentation de la population de *S. fonquerniei* fin août (le début de la saison de la peste).

Une hypothèse nouvelle est développée : les différences de développement des larves des deux espèces observées lors de cette étude sont en faveur d'une présence constante des populations vectrices sur les hautes terres et du maintien de l'infection de la peste toute l'année. La lutte contre la peste pourrait être améliorée si l'effet du climat sur les vecteurs était prise en compte dans la compréhension de l'épidémiologie de la peste.

Plusieurs études participent à l'accomplissement de cette activité. L'une d'elles intitulée "Etude du peuplement d'ectoparasites de petits mammifères dans la forêt de Maromizaha (Andasibe)" est réalisée dans le cadre d'un DEA de Biologie Animale de l'Université d'Antananarivo, les autres sont effectuées lors des missions en forêt où les petits mammifères capturés sont "épouillés" afin de récolter les ectoparasites.

**Instituts partenaires :** Association Internationale VAHATRA  
**IPM :** S Randriamaherijsaona, T Ramihangihajason, N Elissa

**Financement :** en partie VOLKSWAGEN (pour le DEA)

Madagascar abrite une grande variété d'espèces endémiques de petits mammifères non-volants. La faune sauvage de petits mammifères endémiques est parasitée par des tiques (Ixodidae, Acarida), des puces (Siphonaptera, Insecta) et des acariens (Mesostigmata, Acarida). Le but du présent projet est de compléter les informations concernant les ectoparasites des petits mammifères malgaches, notamment à leur stade libre, la dynamique de leurs populations et leurs cycles de croisances.

Les recherches effectuées sur les puces des rongeurs ont confirmé le rôle important de ces dernières dans la transmission de la peste (Duplantier *et al.* 1999). Ces études se sont portées sur les puces de *Rattus rattus* et de *Rattus norvegicus* et se sont focalisées sur le stade adulte parasite de certaines espèces de puces dont *X. cheopis* et *Leptopsylla segnis*.

Toutefois, quelques spécimens de puce du genre *Dinopsyllus* ont été capturés en phase parasitaire (largement les adultes) sur *Tenrec ecaudatus*, *Hemicentetes* et *Microgale* spp. En 2001, des études ont aussi été effectuées sur les tiques des petits mammifères malgaches (Randimby, 2001). Selon cette étude, 15 espèces d'Ixodidae ont été récoltées sur certaines espèces de petits mammifères. Ayant réalisé des inventaires des tiques des petits mammifères des forêts d'altitude malagasy, la phase libre des tiques n'a pas été étudiée.

Dans ce projet, les objectifs à atteindre visaient à améliorer la compréhension des interactions entre hôtes et parasites, en tenant compte du stade libre de ces derniers dans les terriers de petits mammifères. Cette étude visait en effet à :

- déterminer le nombre d'espèces d'ectoparasites de quelques espèces de petits mammifères dans un site de forêt humide,
- vérifier l'existence d'une spécificité écologique et

abiotique pour le stade libre de l'ectoparasite; biotique pour le stade parasitaire,

- déterminer l'affinité parasitaire d'une espèce d'ectoparasite par rapport à la communauté de petits mammifères locaux.

A long terme, cette étude a aussi pour objectif d'identifier les arbovirus et autres pathogènes qui pourraient être transmis par ces ectoparasites ainsi que de chercher un rôle de réservoir naturel de maladies zoonotiques joué par les petits mammifères.

### Sites d'étude (figure 1)

Quatre forêts (humides) ont été investiguées : Anorana (Anjozorobe), Ankazomivady (Ambositra), Lakato et Maromizaha (Moramanga). Dans chacune des zones, trois sites ont été étudiés : bas fond, versant, crête.

### Méthodologie

- Capture des micromammifères à l'aide de pièges : pit fall, sherman, national tomahawk,
- épuçage des micromammifères avec une brosse dans une cuvette,
- suivi des micromammifères par la technique de capture-recapture (collage d'un fil spécial sur le dos de l'animal préalablement rasé entre les omoplates, relâchage de l'animal et attache du bout du fil sur un support fixe, suivi de l'animal après quelques heures),
- collecte ou aspiration des puces dans les terriers retrouvés,
- identification au laboratoire des puces collectées.

### Résultats

Les résultats des inventaires sont consignés dans le tableau IV.

Tableau IV : Liste des micromammifères par site d'étude en forêt et nombre d'ectoparasites observés

2010 Espèces	Anorana mars		Lakato octobre		Maromizaha novembre				Ankazomivady décembre	
	Nombre Mm	Nombre Pc	Nombre Mm	Nombre Pc	Nombre Mm	Nombre Pc	Nombre Ac	Nombre Tq	Nombre Mm	Nombre Pc
<i>Chaerophon atsinanana</i>			25	26						
<i>Eliurus major</i>	1	1							14	6
<i>Eliurus minor</i>			2							
<i>Eliurus tanala</i>	2	6								
<i>Gymnuromis roberti</i>			1							
<i>Hemicentetes semispinosus</i> <sup>1</sup>		2			2	2	11			
<i>Hemicentetes nigriceps</i>									8	44
<i>Microgale cowani</i>					1	8	0	23	7	
<i>Microgale dobsoni</i>	32	71	4	1				8	28	
<i>Microgale drouhardi</i>					10	109	22			
<i>Microgale fotsifotsy</i>			2		1	0	0			
<i>Microgale gracilis</i>					1	1	9			
<i>Microgale gymnoryncha</i>			4		1	2	8			
<i>Microgale longicaudata</i>					4	5	5	5		
<i>Microgale majori</i>			1		3	10	6			
<i>Microgale parvula</i>			1		4	3	3	9	3	
<i>Microgale principula</i>			2		3	1	3	2		
<i>Microgale soricoïdes</i>	11	26			2	1	2	4		
<i>Microgale taiva</i>			4		15	1	70	42		
<i>Microgale talazaci</i>			2		2	3	13	26		
<i>Microgale thomasi</i>	1	1			6		40	30		
<i>Myotis goudoti</i>			2							
<i>Nesomys rufus</i>	2	2	3	3						
<i>Oryzomys hova</i>	5	9	1		1	8	35	8	2	
<i>Rattus rattus</i>	25	45	17	14				11	25	
<i>Setifer setosus</i>			1	4	4	1	46	12	1	3
	<b>80</b>	<b>163</b>	<b>72</b>	<b>48</b>	<b>60</b>	<b>6</b>	<b>320</b>	<b>216</b>	<b>89</b>	<b>118</b>

Les puces sont conservées dans l'alcool en attente de la mise en place d'une méthode d'identification moléculaire qui fera partie du sujet de Master d'Entomologie Médicale de S Randriamaherijaona.

### ELEVAGE DE VECTEURS EN INSECTARIUM

L'unité bénéficie depuis quelques années de deux insectariums l'un pour les moustiques avec trois espèces vectrices et le second pour les puces avec deux espèces vectrices. L'intérêt de posséder des élevages réside, en premier, dans l'établissement de lignées contrôlées importantes pour le contrôle des tests insecticides et plus spécifiquement pour l'étude des mécanismes potentiels de résistance des vecteurs aux insecticides. En second, ces élevages permettraient des études d'interactions hôte/pathogènes (parasite, bactéries, virus) relativement standardisées.

#### AEDES ALBOPICTUS, ANOPHELES ARABIENSIS ET CULEX QUINQUEFASCIATUS

HJ Velonirina, E Tata, JC Rakotoniaina, T Ramihangihajason, L Andrianaivolambo, N Elissa

Les colonies d'*Ae. albopictus* et *Cx. quinquefasciatus* sont élevées depuis plusieurs années, quant à celles d'*An. arabiensis* deux souches ont été adaptées depuis deux ans. Nous sommes à une vingtaine de générations stabilisées. Pour la production continue de nouvelles générations, les adultes sont gorgés grâce à des repas artificiels sur membrane.

#### XENOPSYLLA CHEOPIS ET SYNOPSISYLLUS FONQUERNIEI

T Ramihangihajason, C Rahaingosoamamitiana, L Andrianaivolambo, N Elissa

Ces deux espèces sont élevées en insectarium depuis plusieurs générations. Les difficultés rencontrées avec *S. fonquerniei* ont été résolues.

### ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

(voir page 82)

---

---

# PESTE

---

---

*L'Unité Peste regroupe l'Unité de recherche, le Laboratoire Central Peste (LCP) du Ministère de la Santé Malagasy et l'Unité de Production de Bandelettes. Le LCP est le Laboratoire National référent pour le diagnostic biologique de la peste à Madagascar. Cette unité a renouvelé son mandat de Centre Collaborateur OMS pour la peste en juillet 2009.*

*Les activités présentées dans ce rapport s'inscrivent dans le prolongement du programme de recherche, de service et de santé publique de l'Unité Peste associée aux Unités d'Epidémiologie, d'Entomologie et de l'Immunologie de l'Institut Pasteur de Madagascar.*

*Les activités de recherche se sont orientées en particulier vers des études sur les réservoirs, les vecteurs, les humains et les facteurs de risque pesteux. Une collaboration avec l'Université d'Aberdeen pour des recherches sur la peste et le climat entame sa 3<sup>ème</sup> année. L'Unité Peste travaille également en collaboration avec l'Institut National de Santé du Pérou.*

*En terme de santé publique, l'année 2010 a été marquée à Madagascar par la diminution du nombre de cas confirmés de peste par la bactériologie et des Services de Santé de Districts notifiant des cas. Par ailleurs, certains indicateurs de performance du programme se sont améliorés : taux de peste pulmonaire et létalité due à la peste. Le financement du Laboratoire Central de la Peste, bien que limité, a permis d'assurer au minimum le diagnostic de routine, le ravitaillement en tests rapides des Centres de Santé de Base (CSB) et la supervision formative de l'utilisation des tests rapides au niveau de quelques régions.*

*Enfin, le Centre Collaborateur OMS peste a continué d'assurer des services concernant les programmes d'intérêt régional et mondial en matière de peste, notamment la formation des pays africains sur les techniques de diagnostic biologique et de confirmation de la peste et l'assistance technique lors d'une épidémie de peste au Pérou.*

---

## DECOMPOSITION DU PROGRAMME

### CENTRE COLLABORATEUR OMS POUR LA PESTE

#### ACTIVITES DE RECHERCHE

- 1- Etudes de la réponse immunitaire lors d'une infection pesteuse : interaction hôte animal et *Yersinia pestis***
- 2- La diffusion de la peste à Madagascar : importance des déplacements des hommes et des rats de l'échelle de l'habitat à celle du paysage ; détermination des facteurs de risque**
- 3- Epidémiologie de la peste en zone rurale à paysages hétérogènes à Madagascar : étude des vecteurs et agents pathogènes**
- 4- Amélioration d'outils de diagnostic : évaluation de la carte FTA en condition de terrain en vue du diagnostic de la peste par PCR**

#### ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

- 1- Activités du Centre Collaborateur OMS Peste (voir page 62)**
  - 2- Activité du Laboratoire Central de la Peste (voir page 72)**
-

## ACTIVITES DE RECHERCHE

### 1- ETUDES DE LA RÉPONSE IMMUNITAIRE LORS D'UNE INFECTION PESTEUSE : INTERACTION HÔTE ANIMAL ET *YERSINIA PESTIS*

IPM : V Andrianaivoarimanana, L Ralafiarisoa, D Andriamanana, M Ranjalahy, M Rajerison, R Jambou, L Rahalison

Projet Wellcome Trust : F Andriamiarimanana, C Rahaingosoamamitiana, S Telfer

#### Introduction

Si plusieurs études ont été publiées sur la réponse immunitaire dirigée contre *Yersinia pestis* chez la souris ou les rats de laboratoire, très peu ont été menées chez le principal réservoir qu'est le rat noir, *Rattus rattus*. Ce travail fait partie de la thèse de Mlle Voahangy Andrianaivoarimanana et apportera les informations nécessaires quant au rôle de *R. rattus* dans le maintien du cycle de la maladie par l'étude de l'acquisition d'une immunité protectrice des rats après infection expérimentale par *Y. pestis*.

#### Objectifs

Cette étude vise à caractériser les réponses immunitaires développées chez le rat noir après une infection expérimentale par *Y. pestis*. Il s'agit d'analyser la réponse humorale, le rôle de ces anticorps, la réponse inflammatoire et enfin la réponse mémoire vis-à-vis de l'antigène F1 de la peste.

#### Méthodologie

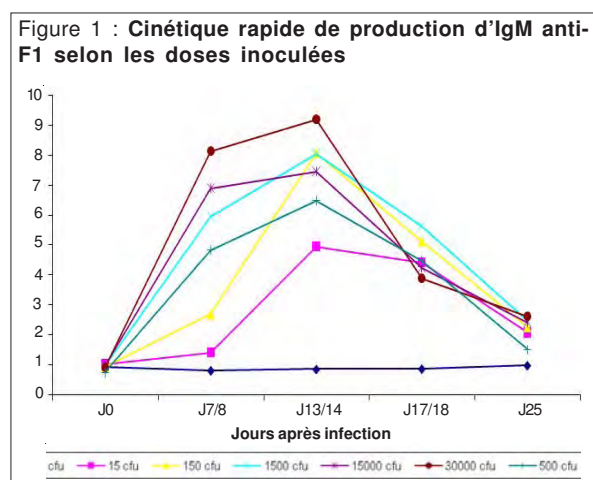
Cette étude a été réalisée sur des rats noirs capturés dans des foyers pesteux (SSD Betafo). Des infections expérimentales (primo et rappel) avec des doses de *Y. pestis* ont été effectuées sur des rats considérés comme naïfs de la peste (négatifs en anticorps anti-F1). La production d'IgM a été suivie.

Le rôle protecteur de l'anticorps a été déterminé en faisant une injection de rappel (dose  $2.10^5$  cfu) sur les rats survivants de la primo infection. L'étude de la réponse mémoire a été effectuée sur des cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC) stimulées par l'antigène F1 avec le test de transformation lymphocytaire (TTL) suivant la méthode utilisant le MTT (bromure de 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium).

La réponse inflammatoire sera réalisée sur des individus de deuxième génération (F1) nés en captivité et issus de parents considérés comme naïfs de la peste.

#### Résultats

Un test ELISA sandwich a été mis au point pour la détection d'IgM anti-F1 sur des sérums de *R. rattus*. Ce test a été évalué sur des sérums de rats inoculés avec une dose unique de 500 cfu de *Y. pestis* (n=26) et sur d'autres lots de rats (n= 16 par dose) inoculés avec 5 doses (15, 150, 1500, 15000 et 30000 cfu). La séroconversion apparaît vers J7/8 pour atteindre un pic à J13 puis le taux décroît jusqu'à J25 (figure 1). La réponse en IgM anti-F1 tout comme en IgG anti-F1 est dose dépendante.



Cette partie sur la réponse humorale fait l'objet d'un manuscrit intitulé "Immune Response of wild *Rattus rattus* during Infection with *Yersinia pestis* : epidemiological implications" soumis pour publication.

#### Perspectives

- L'expérimentation correspondant à l'étude du rôle protecteur des anticorps est terminée. L'analyse des prélèvements reste à faire.

- Le test TTL par MTT pour la réponse mémoire est en cours de mise au point.

- L'expérimentation sur la réponse inflammatoire est en cours. L'étude de la réponse inflammatoire sera effectuée à partir de la détection des cytokines produites après l'infection par cytométrie de flux.

### 2- DIFFUSION DE LA PESTE À MADAGASCAR : IMPORTANCE DES DÉPLACEMENTS DES HOMMES ET DES RATS DE L'ÉCHELLE DE L'HABITAT À CELLE DU PAYSAGE ; DÉTERMINATION DES FACTEURS DE RISQUE

IPM : S Rahelinirina, L Ralafiarisoa, M Ranjalahy, M Ratsimba, N Randriananja, C Raharimanana,

J Ratovonjato, L Rahalison, M Rajerison  
Université d'Antananarivo (Géographie) : Y Raharilantsoa,  
J Ramamonjisoa  
IRD Mali : Y Papillon  
IRD Montpellier : JM Duplantier, C Brouat  
UPPA : D Laffly  
Université de Strasbourg : P Handschumacher,  
Université de Liverpool, UK : M Begon, K Kreppel, M Baylis  
Université d'Aberdeen : S Telfer

Financement : ANR 2006 SEST 010 02 (01/12/2006-31/05/2010)

## ▪ Volet réservoir

### Introduction

L'année 2010 a été consacrée au prolongement du projet ANR 2006 en vue de finir l'analyse des résultats et l'étude génétique.

### Objectifs

Le but du projet est de comprendre comment la maladie se pérennise sur les Hautes Terres (Mandoto, Betafo, Ambositra, Moramanga) depuis un siècle en l'absence de réservoir sauvage : le rat noir étant *a priori* très sensible à la peste. Il s'agit de déterminer : **i) au niveau local** : les conséquences de la fragmentation des habitats et d'analyser les effets de la connectivité sur le flux des individus ; **ii) au niveau régional** : l'importance du relief sur la structuration des populations de rats (montagnes vs plaine). L'objectif finalisé est d'établir une cartographie des habitats et des zones à risque.

### Méthodes

Ce programme est réalisé grâce à deux méthodes complémentaires de suivi des populations de rats : le marquage de masse par des appâts marqués à la rhodamine B et une analyse de génétique des populations.

### Résultats

Les résultats de l'étude du déplacement lors de la période d'étude ont montré que :

- la Rhodamine B n'a pas d'effet sur l'abondance des rats noirs et des puces,
- les maisons sont une source permanente de production de rongeurs : en haute saison de transmission, il existe un flux (10%) de rats à double sens entre maisons et haies de sisal; en basse saison de transmission, près de 50% des rats de maison vont coloniser les haies de sisal (39%) et les bas fonds (11%),
- l'index pulicidien, la séroprévalence en anticorps anti-F1 et le portage en antigène F1 étaient plus élevés en haute saison de transmission de la peste,
- *Xenopsylla cheopis* et *Synopsyllus fonquerniei* étaient porteurs de *Y. pestis* en haute saison mais pas en basse saison,
- les rats se déplacent plus loin en saison de récolte, *i.e.* à la basse saison de la peste.

Les analyses d'isolement par la distance sont en

cours au sein des quatre zones. Des analyses de génétique des populations classiques ont été effectuées pour chacune des quatre zones, avec les logiciels Genepop v. 4.0. (tests du déséquilibre de Hardy-Weinberg et du déséquilibre de liaison, calcul des indices de diversité, des *F*-statistiques, tests de différenciation génique et génotypique, isolement par la distance), FreeNA (afin de tenir compte de la présence d'allèles nuls sur certains loci dans l'estimation des *F*ST), FStat v. 2.9.3.2. (comparaison des estimateurs de diversité et de structure génétique entre les quatre zones ou entre les trois classes d'habitat), GeneClass2 (estimation du nombre de migrants de première génération par population) et Arlequin (ANOVAs sur les localités et les types d'habitats). L'analyse génétique sera réalisée à l'IRD Montpellier.

## ▪ Volet humain

### Introduction

Ce volet fait l'objet d'une thèse de géographie de la santé de Mlle Y Raharilantsoa intitulée "Dynamique spatio-temporelle des espaces à risque pesteux dans le Vakinankaratra, Hautes Terres Centrales de Madagascar". Des enquêtes de terrain à l'échelle des exploitations et des entretiens auprès des acteurs à divers niveaux ont été effectuées afin de comprendre la réalité des pratiques de l'espace en fonction des caractéristiques des communautés villageoises.

### Objectif

L'objectif général de la thèse est de déterminer les processus de mise en place des paysages à risque pesteux sur les Hautes Terres malagasy. Les objectifs spécifiques visent à identifier les facteurs de risques de la peste et de leur agencement spatial; de mettre en lumière leurs déterminants sociaux, économiques et politiques; et de proposer des orientations de prévention. La finalité serait de mettre à jour des indicateurs environnementaux opérationnels de risque en vue d'optimiser le système actuel de veille.

### Réalisation en 2010

Les tâches réalisées au cours de l'année 2010 comprennent :

- les activités propres à l'établissement des données (saisie, codage, lexique),
- les étapes préliminaires de la rédaction (établissement du plan général de thèse, des plans détaillés des chapitres, soumission aux directeurs et au membre du comité de thèse),
- la rédaction (bibliographie; téléchargement des données générales : peste, contextes; analyse et synthèse, écriture),

- et enfin l'analyse des données.

Le séjour à Strasbourg de Mlle Y Raharilantsoa (financement AUF), du 18 novembre au 22 décembre, a marqué le début de la phase d'analyse des données.

### Perspectives

L'exploitation des données et la rédaction de la thèse sont en cours. La soutenance sera prévue pour le premier trimestre de l'année 2012.

### 3- EPIDÉMIOLOGIE DE LA PESTE EN ZONE RURALE À PAYSAGES HÉTÉROGÈNES À MADAGASCAR : ÉTUDE DES VECTEURS ET AGENTS PATHOGÈNES

IPM : F Andriamarianana, C Rahaingosoamamitiana, M Ranjalahy, D Andrianimanana, L Ralaftarisoa, M Ratsimba, N Randriananja, C Raharimanana, S Rahelinirina, J Ratovonjato, N Elissa, L Rahalison, M Rajerison

Collaborations nationales : SSPFD Antsirabe II et Vakinankaratra, Direction de la Météorologie Nationale Malagasy

Université d'Aberdeen, UK : S Telfer,

Université de Liverpool, UK : K Kreppel, M Baylis

IRD Mali : Y Papillon

IRD Montpellier : JM Duplantier, C Brouat

Université de Strasbourg : P Handschumacher,

Université de Liverpool, UK : M Begon, K Kreppel, M Baylis

Université d'Aberdeen : S Telfer

Financement : Wellcome Trust Research Career Development Fellowship in Tropical Medicine-2007

Les travaux réalisés ont été décrits depuis le rapport d'activités 2007. Ce projet est complémentaire de l'étude sur la diffusion de la peste. Il aborde les volets vecteur et agent pathogène ainsi que la sensibilité des rats à *Y. pestis*.

#### ▪ Volet vecteur

##### Objectifs

Cette partie se concentre sur les deux espèces de puces vectrices de la peste *Xenopsylla cheopis* et *Synopsyllus fonquerniei* et consiste à :

- étudier les tendances spatiales et temporelles dans les nombres de puces,
- évaluer la structuration génétique des vecteurs de la peste,
- établir un modèle de transmission de la peste.

Les objectifs spécifiques sont :

- 1- déterminer selon la saison : **i**) la population des puces, **ii**) l'état de reproduction des puces,
- 2- déterminer les facteurs qui influencent la variation spatiale du nombre de puces (et des rats qui le supportent) entre **i**) villages et **ii**) entre milieux dans le même village,
- 3- déterminer les facteurs qui influencent le nombre de puces dans un terrier, notamment le microclimat des terriers,

4) estimer la structuration de population de puces et leur taux de déplacement **i**) entre les différents hôtes (de même espèce ou d'espèces différentes); **ii**) entre les différents terriers et **iii**) entre les différents milieux à l'échelle du village à l'aide de marqueurs microsatellites.

### Méthodologie

L'étude se fait sur l'axe vers Antsirabe et Betafo et consiste en des missions de piégeage dans 3 milieux (maisons, sisal, rizières). La densité des réservoirs est estimée en nombre de traces des pattes (tunnels déposés 3 mois avant et au moment du piégeage). Les rats capturés ont été ramenés vivants (pour les expériences sur la sensibilité) ou disséqués sur place. Les puces des rats ont été collectées, identifiées et disséquées pour voir leur stade de développement. Le statut des rats et puces vis-à-vis de *Y. pestis* a été étudié. Au laboratoire, les sérobuvars des rats sont testés en sérologie et leur rate sur bandelette et en bactériologie. Les puces ont été testées par PCR et leurs génétiques avec les microsatellites.

### Réalisations en 2010

En février 2010, Ankerana Est et Tsaratanana d'Antsirabe II, ainsi que Beronono et Tatamolava d'Ankazomiriotra étaient les lieux de capture. Trois missions dont deux en inter-saison (juin, septembre) et une en saison de peste humaine (décembre) ont été réalisées dans quatre villages de Betafo (Malaza, Beronono, Andratsaimahamasina et Tatamolava).

Tableau I : Récapitulatif des captures

Mois	<i>Rattus rattus</i>	<i>Mus musculus</i>	<i>Suncus murinus</i>	<i>Xenopsylla cheopis</i>	<i>Synopsyllus fonquerniei</i>
Février	208	28	7	217	29
Juin	310	19	10	206	28
Septembre	278	45	1	124	214
Décembre	243	36	3	133	112

Microsatellites pour l'étude génétique des vecteurs : 14 séquences différentes de *S. fonquerniei* et 11 séquences différentes de *X. cheopis* ont été identifiées.

#### ▪ Volet réservoir : étude de la sensibilité des rats dans la zone endémique

##### Objectifs

Des études antérieures ont montré que la sensibilité des *Rattus rattus* qui viennent des côtes est différente de celle des rats de la zone endémique. Dans ce projet, la variation de la sensibilité des rats à l'intérieur de la zone endémique sera étudiée.

Les objectifs spécifiques sont :

- 1) déterminer les tendances spatiales et temporelles dans la sensibilité de *R. rattus*,

2) déterminer les autres facteurs qui influencent la sensibilité (sexe, âge, condition, milieu),

3) suivre l'évolution de la maladie chez les rats (nombre des cellules rouges/blancs, bactériémie).

#### Méthodes

Les rats ramenés vivants sont soumis à des infections expérimentales avec *Y. pestis*. Pour chaque expérience, 5 ou 6 doses différentes sont utilisées. A chaque dose on utilise des lots d'animaux selon le village, le sexe, et l'habitat. Avant l'infection et à jour 2, 4, 7, 10, 14, 18 et 25 après l'infection, du sang est prélevé sur chaque animal. Ce prélèvement sera testé en sérologie, en bactériologie et par numération des globules rouges et leucocytes.

#### Résultats

En janvier 2010, des expérimentations ont été faites avec des rats ramenés en décembre 2009 de Malaza et Andratsaimahamasina; en mars 2010, avec des rats de Beronono et Tatamolava ramenés en février 2010. A partir du mois de juin 2010, des captures et des infections ont été réalisées tous les trimestres (rats de Malaza, Beronono, Andratsaimahamasina et Tatamolava).

Tableau II : Récapitulatif des expérimentations

Missions	Durée de suivi (en jours)	Total rats infectés	Témoins	Total morts	Nombre de villages
Décembre 2009	25	72	8	23	2
Février 2010	25	72	8	46	2
Juin 2010	25	107	13	40	4
Septembre 2010	25	114	16	46	4

#### ▪ Agent pathogène : structures génétiques des populations de *Y. pestis*

Le but de cette étude est de mieux comprendre les liens entre la dynamique des hôtes, celle des vecteurs et l'épidémiologie de la peste en zone rurale. Cette étude sera réalisée pendant l'année 2011-2012.

#### 4- AMÉLIORATION D'OUTILS DE DIAGNOSTIC : ÉVALUATION DE LA CARTE FTA EN CONDITION DE TERRAIN EN VUE DU DIAGNOSTIC DE LA PESTE PAR PCR

IPM : L Charrier, F Andriamiarimanana, N Randriananja, C Raharimanana, M Ratsimba, S Andrianalimanana, M Rajerison

IPP : E Carniel

SSD : Miarinarivo, Ankazobe, Antananarivo-Avaradrano, Ambohidratrimo

Financement : IPM - projet interne

#### Introduction

La culture, "Gold Standard", est une technique avantageuse du fait de l'obtention de souches de *Y. pestis* pour la surveillance de la sensibilité aux antibiotiques mais aussi pour des études de typage moléculaire ultérieures.

Elle présente néanmoins l'inconvénient d'être peu sensible, gênée par les traitements antibiotiques ou la présence de contaminants et de dépendre des délais d'acheminement des prélèvements. Une des grandes avancées en termes de diagnostic biologique de la peste a été le développement du TDRA. Les avantages prouvés de cet outil sont reconnus au niveau international. Par ailleurs, les efforts d'amélioration d'outils de diagnostic doivent être poursuivis, notamment ceux permettant de détecter d'autres cibles chez *Y. pestis*. La carte "Flinders Technology Associates (FTA)" présente toutes les caractéristiques d'un support permettant le transport d'échantillons biologiques. A partir de cette carte, l'ADN bactérien peut être extrait puis la recherche de gène pPla spécifique à *Y. pestis* peut être réalisée par PCR.

#### Objectifs

Le but de l'étude est de tester les performances de la carte FTA à partir d'échantillons biologiques collectés dans des conditions de terrain. La finalité de l'étude est de pouvoir utiliser ce support et la PCR en complément des autres tests pour la confirmation du diagnostic de la peste lors d'épidémies.

#### Objectifs spécifiques

- Déterminer le seuil de détection de *Y. pestis* sur la carte FTA
- Validation de la carte FTA au laboratoire
- Validation de la carte FTA dans des conditions de terrain
- Utilisation de la carte FTA pour confirmer la présence de *Y. pestis*.

#### Méthodes

##### Validation de la carte FTA au laboratoire

La détermination du seuil de détection de *Y. pestis* sur la carte FTA se fera à partir d'une gamme de suspension bactérienne de *Y. pestis* mélangée à un pool de pus de bubon négatif. 10µl de ce mélange sera ensuite déposé sur disque FTA. La validation de la carte FTA sera faite au laboratoire sur des échantillons biologiques dont le résultat bactériologique est connu. Les PCRs seront réalisées en parallèle sur l'ADN déposé sur disque FTA ainsi que sur le thermolysât du même échantillon.

##### Validation de la carte FTA dans des conditions de terrain

Si le patient accepte de participer à cette étude, en plus des prélèvements recommandés dans le cadre d'une surveillance de la peste, une goutte de sang sera recueillie dans un tube de 200µl d'eau distillée après pi-

qûre du bout de doigt à l'aide d'un vaccinostyle. Une goutte de chaque type de prélèvement sera déposée sur disque FTA, puis séchée pendant 1 heure à RT. Le tout est envoyé au LCP selon les procédures déjà en place.

### **Résultats**

La carte FTA permet de confirmer le diagnostic de la peste par PCR (pPla) sans risque de contamination du

manipulateur. Lors de la première année de cette étude, le nombre d'échantillon collecté est faible, mais les résultats sont prometteurs : concordance PCR sur carte FTA et bactériologie gold standard et/ou concordance PCR sur carte FTA et TDRA. Elle sera prolongée jusqu'à la fin du mois d'avril 2011.

---

## **ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE**

*(voir page 62)*



---

---

# TUBERCULOSE ET MYCOBACTERIES

---

---

La tuberculose (TB) est toujours un problème mondial de santé publique aggravé par l'épidémie de VIH et l'émergence de souches *Mycobacterium tuberculosis* multirésistantes aux antituberculeux. Environ 25 000 cas de TB sont détectés chaque année à Madagascar par le Programme National de Lutte contre la TB (PNLT, Ministère de la Santé Publique). En association avec le Service des Laboratoires des Mycobactéries du Ministère de la Santé, le laboratoire des mycobactéries de l'IPM forme le Centre National de Référence des Mycobactéries, et intervient dans la lutte contre la TB grâce à ses activités de diagnostic (microscopie, culture, tests de résistance), de surveillance des résistances, de formation (étudiants et techniciens) et de recherches opérationnelles menées en collaboration avec le PNLT.

Les activités de recherche menées au sein de l'unité des mycobactéries comprennent une étude de l'association du génotype des souches cliniques de *M. tuberculosis* avec leur virulence, et des projets à travers lesquels l'unité des mycobactéries acquiert des compétences pour la réalisation de futurs essais vaccinaux pour la tuberculose. Par ailleurs, des tests de diagnostic rapide de la TB et de la multirésistance à la rifampicine et à l'isoniazide ont été évalués pour une meilleure prise en charge des patients tuberculeux.

---

## DECOMPOSITION DU PROGRAMME

### ACTIVITES DE RECHERCHE

- 1- Contribution des îlots génomiques acquis par transfert horizontal à la diversité des isolats cliniques de *Mycobacterium tuberculosis* et association aux caractères de virulence (PTR 253)
- 2- Susceptibilité génétique à la tuberculose (PTR 202)
- 3- Renforcement de capacités pour les essais cliniques vaccinaux en Ethiopie, Tanzanie et Madagascar (ETMATACAP)
- 4- Nouveaux outils de diagnostic
- 5- Utilisation de l'ADN extrait à partir de frottis sur lame pour le diagnostic moléculaire de la multirésistance (MDR) de *M. tuberculosis*

### ACTIVITES DU LABORATOIRE NATIONAL DE REFERENCE DES MYCOBACTERIES (voir page 69)

1. Activités de diagnostic et de supervision du CNRM
  2. Mise en place et évaluation d'un test moléculaire de détection des multirésistances (MDR)
-

# ACTIVITES DE RECHERCHE

## 1– CONTRIBUTION DES ÎLOTS GÉNOMIQUES ACQUIS PAR TRANSFERT HORIZONTAL À LA DIVERSITÉ DES ISOLATS CLINIQUES DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ET ASSOCIATION AUX CARACTÈRES DE VIRULENCE (PTR 253)

IPM : *N Rakotosamimanana, V Richard, E Vololonirina, V Rasolofo*

IPP : *B Gicquel*

IPK : *B Brodin*

IPBS-CNRS : *O Neyrolles*

*Il s'agit d'un Programme Transversal de Recherche (PTR253) coordonné par l'IPM et auquel participent également l'unité de génétique mycobactérienne de l'IPP, l'Institut Pasteur Korea (IPK) et l'IPBS/CNRM Toulouse.*

### Introduction

L'émergence de souches *M. tuberculosis* multirésistantes (MDR) et extrêmement résistantes (XDR) aux traitements thérapeutiques standards justifie les efforts fournis au niveau mondial dans la recherche de nouveaux antituberculeux pour lutter contre ces types de tuberculose.

Seulement 10% des sujets infectés par *M. tuberculosis* développent la maladie TB, ce qui peut être expliqué par différents facteurs environnementaux, génétiques de l'hôte mais aussi de l'agent pathogène infectieux. La détermination des facteurs de virulence de *M. tuberculosis* devrait permettre d'identifier des cibles pour de nouveaux médicaments et vaccins.

### Objectifs

Les souches pathogènes du complexe *M. tuberculosis* (CMT) ont évolué avec leur hôte et se sont adaptées aux aléas de leur environnement par l'acquisition de nouveaux caractères, soit par des mutations spontanées dans le génome, soit à partir d'échanges de matériel génétique d'un organisme à un autre comme les transferts horizontaux de gènes (HGT). La contribution de ces derniers à l'évolution du génome des souches du CMT a été montrée par Becq *et al.* par la mise en évidence de la présence de 48 îlots génomiques, dont l'intérêt et le rôle dans la survie de la bactérie mais aussi dans ses relations avec l'hôte demeurent peu explorés. L'objectif de ce programme est donc de rechercher s'il existe un polymorphisme dans les îlots génomiques acquis par HGT chez les souches cliniques actuelles de *M. tuberculosis* et d'étudier leur relation avec la diversité génétique, épidémiologique, clinique et la virulence de ces souches.

### Méthodologie

Les spoligotypes de 186 isolats cliniques du CMT (120 pulmonaires et 66 extrapulmonaires) ont été déterminés. Le polymorphisme de taille de 48 îlots génomiques chez ces souches a été recherché par PCR. Les îlots polymorphes ont été séquencés (GenoScreen) et analysés sur GenAlysCarbon 2.8 (<http://software.cng.fr/>) par comparaison à une souche de référence (*M. tuberculosis* H37Rv ou CDC1551).

L'analyse des souches cliniques avec le modèle macrophage in vitro (survie et multiplication, sécrétion de cytokines, "trafficking" dans le macrophage) par l'IPK est en cours.

### Résultats

Quarante-cinq îlots génomiques sur les 48 ont été criblés. Trente sont conservés dans les souches cliniques. Quinze îlots génomiques présentent des polymorphismes correspondant soit à des insertions soit à des délétions partielles ou totales. Le polymorphisme des îlots génomiques chez les bactéries étudiées est associé au schéma évolutif des familles des mycobactéries du CMT. En effet, le nombre d'îlots polymorphes est plus élevé chez les souches "modernes" que chez les souches "ancestrales".

L'étude de mutants des gènes d'un îlot génomique conservé dans toutes les souches cliniques analysées semble lier ce dernier à la résistance aux antibiotiques et des études plus approfondies doivent être réalisées afin de confirmer ces résultats. Par ailleurs, des souches mutées dans cet îlot et toutes les souches cliniques ont été analysées avec le modèle d'étude du "trafficking" des bacilles dans les macrophages développé par l'IPK. L'analyse des résultats est en cours.

### Conclusion et perspectives

Il semble donc qu'il existe une corrélation entre l'acquisition des îlots génomiques, le génotype des souches et l'évolution des bactéries du CMT. Le séquençage des certains îlots polymorphes est encore en cours. Les îlots génomiques conservés pourraient jouer un rôle non négligeable dans la pathogénicité des souches cliniques. Leur étude devrait permettre l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques et ainsi le développement de nouveaux médicaments. Ceci fait l'objet de l'étude "Les transferts horizontaux sont-ils liés à la virulence du bacille tuberculeux : Recherche de nouvelles cibles médicamenteuses pour vaincre la tuberculose", qui a débuté en 2010.

## 2 - SUSCEPTIBILITÉ GÉNÉTIQUE À LA TUBERCULOSE

IPM : V Raharimanga, V Richard, R Rasoahantiraisoa, H Ramarokoto, V Rasolofo

AMEL : B Rakotondrasoa, DS Rakotomananjahary

CDT : médecins du DAT et du CSBII Isotry Central Services de Pédiatrie de HJRB, Ambohimandra, Tsaralalana, CENHOSOA

INSERM U550, Hôpital Necker Paris : L Abel, JL Casanova

IPP : R Brosch, C Demangel

*Cette étude fait partie du programme "Genetics of host predisposition of infectious diseases" (PTR 202 coordonné par Ph Avner, IPP), sous-programme "mycobactéries" coordonné par L Abel.*

### Introduction

Plusieurs études d'association en population ont rapporté le rôle de polymorphismes génétiques dans la TB comme ceux observés au niveau des gènes du récepteur de la vitamine D, des récepteurs Toll-like, du gène *nrap* et des DC-SIGN. Néanmoins, peu d'études familiales ont été réalisées. Par ailleurs, des études ont montré que des génotypes de *M. tuberculosis* se sont différenciés préférentiellement dans certaines régions suggérant que certaines populations humaines sont plus sensibles à certaines souches. L'identification de facteurs génétiques de l'hôte contrôlant l'infection TB, ainsi que l'étude de l'interaction entre ces facteurs humains et le pathogène lui-même permettraient l'approfondissement des connaissances en immunopathologie et seraient ainsi utiles pour la recherche de nouvelles voies pour combattre la TB.

### Objectifs

L'objectif général de ce projet est de déterminer les bases moléculaires de la prédisposition génétique de l'hôte à la tuberculose, c'est-à-dire d'identifier les gènes et les polymorphismes de ces gènes, contrôlant la réponse des sujets infectés par *M. tuberculosis* et le développement de la maladie. Ceci par une étude de génétique épidémiologique (étude de polymorphismes génétiques dans les familles de tuberculeux) et une étude portant sur la génétique mendélienne des formes graves de TB (méningite, miliaire) chez les enfants. Par ailleurs, nous allons rechercher s'il existe une réponse immune spécifique de l'hôte vis-à-vis des variants génétiques de souches *M. tuberculosis* malgaches.

### Méthodologie

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

Il s'agissait de recruter, de juillet 2007 à juin 2010, d'une part, 300 patients TB pulmonaires au dispensaire antituberculeux d'Antananarivo (DAT) et au moins 2

membres de leur famille (parents et/ou collatéraux) et d'autre part, les cas de formes graves de TB pédiatrique dans les services de Pédiatrie. Les données épidémiologiques sur ces familles ont été recueillies. Des échantillons de sang ont été récoltés, à partir desquels les ADN ont été extraits.

Les souches *M. tuberculosis* isolées chez les patients ont été caractérisées par spoligotyping. Pour déterminer s'il existe une corrélation entre génotype des souches BK et réponse immune, le sang total des sujets inclus de septembre 2009 à juin 2010 (patients TB et contacts familiaux) a été stimulé avec l'antigène PPD, et le plasma recueilli pour le dosage de cytokines par le système Luminex à l'IPP.

### Etat d'avancement des travaux

Au total, 282 patients tuberculeux pulmonaires microscopie positive ainsi que 577 membres de leurs familles ont été recrutés. Concernant les formes graves de TB pédiatrique, 20 enfants ont été inclus dont 18 cas de miliaire et 2 cas de méningite.

Parmi les souches *M. tuberculosis* isolées des patients TB, une grande variété de spoligotypes a été observée, avec une prédominance de souches du spoligotype "T" (41,9%), des souches "East African Indian" (13,8%) et des "Latino Méditerranéennes" (10,1%). Pour les autres spoligotypes, nous avons observé 9,8% de souches "Central Asian", 8,22% de "Beijing", 6,1% de "Haarlem", le reste des souches présentant divers spoligotypes du groupe "moderne" (Cameroun, Ghana, Uganda, S et X).

Le dosage de cytokines excrétées par les cellules du sang stimulées par le PPD est en cours.

### Perspectives

Les ADN des patients TB et de leurs familles ont été envoyés à l'équipe de L. Abel pour l'analyse génétique.

Le dosage des cytokines dans les plasmas des sujets est en cours à l'IPP. L'analyse de la réponse immune des sujets en fonction du génotype des souches sera ensuite réalisée en collaboration avec l'IPP et l'unité d'épidémiologie de l'IPM

## 3- RENFORCEMENT DE CAPACITÉS POUR DES ESSAIS CLINIQUES EN TUBERCULOSE EN ETHIOPIE, TANZANIE ET MADAGASCAR (ETMATACAP)

IPM : E Vololonirina, P Ranaivomanana, V Raharimanga, R Ratovoson, V Richard, V Rasolofo

Partenaires du projet ETMATACAP

### Objectifs

L'efficacité du BCG, seul vaccin actuellement dispo-

nible, varie selon les populations. La diminution de l'incidence de la TB nécessite le développement de nouveaux vaccins efficaces. Ces dernières années, plusieurs candidats vaccins ont été développés et certains sont à présent testés en phase I ou II.

La réalisation d'essais cliniques en Afrique est tributaire de la présence de sites possédant les capacités techniques et en personnel compétents dans les laboratoires et les centres cliniques. Le projet "Capacity building for the conduct of ICH-GCP level TB vaccine trials in high risk populations in Ethiopia and East Africa" (ETMATACP), coordonné par l'Armauer Hansen Research Institute (AHRI, Ethiopie), a pour objectif de renforcer les compétences de AHRI et de ses deux partenaires, Madagascar et Tanzanie, pour de futurs essais vaccinaux en TB.

### Approche méthodologique

A Madagascar, il s'agit de la formation des scientifiques malgaches aux bonnes pratiques cliniques et bonnes pratiques de laboratoire pour les essais cliniques.

### Réalisations en 2010 et perspectives

#### • Formation

Un médecin de l'unité d'épidémiologie a continué son cycle de Master 2 d'Epidémiologie Clinique de l'université de Bordeaux 2 en 2009-2010.

Trois séances de formation pratique sur les techniques immunologiques ont été faites à l'IPM par ImmunoVac Consulting pour des étudiants et techniciens (11-23 mars, 6-17 sept., 29 nov.-10 déc.).

#### • Etude sur la réponse immunitaire au BCG chez les enfants

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

Pour mettre en application les techniques acquises, une étude faisant l'objet du stage de DEA d'un étudiant de la Faculté des Sciences d'Antananarivo, intitulée "Etude de la réponse immunitaire chez les enfants vaccinés par le BCG à Madagascar" a été développée. Plus spécifiquement, il s'agit de comparer chez deux groupes d'enfants vaccinés et non vaccinés par le BCG, la production de l'IFN- $\gamma$  par les cellules du sang périphérique, après une stimulation par le BCG et par le PPD, antigène spécifique du complexe, en utilisant : **1)** la détermination du nombre de cellules sécrétrices d'IFN- $\gamma$  par le test ELISPOT ; **2)** l'analyse de cellules sécrétrices de cytokines (IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\alpha$ ) par la cytométrie de flux.

Il s'agit d'une étude cas-témoin enfants vaccinés - enfants non vaccinés, recrutés chez des enfants

scolarisés dans les écoles et/ou collèges à Antananarivo.

A ce jour, les résultats obtenus par la méthode ELISPOT n'ont montré aucune différence significative en fonction de l'âge et de la vaccination par le BCG entre les différents groupes de sujets.

### Conclusion et perspectives

Ce projet a permis l'initiation de personnels et étudiants de l'unité à des techniques immunologiques utilisables dans les essais cliniques, ainsi que la formation de personnels de l'unité d'épidémiologie à la conduite d'essais cliniques. L'étude sur la réponse immunitaire au BCG chez les enfants sera achevée en 2011.

## 4- OUTILS DE DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE

IPM : HAO Saïd Tohir, H Ramarokoto, V Rasolofo

De nouveaux tests simples et plus rapides que la culture, mais fiables, sont toujours recherchés pour la détection précoce de la TB et en particulier des formes paucibacillaires comme les TB extrapulmonaires qui sont difficiles à diagnostiquer. D'après la littérature, il semble possible de concentrer et ainsi de détecter les microorganismes présents à de faibles concentrations dans de grands volumes de prélèvements par la technique d'immunocapture sur des billes magnétiques.

Nous avons évalué la faisabilité de la méthode d'immunocapture sur des billes magnétiques (IMC) pour la détection de *M. tuberculosis* dans les échantillons biologiques.

La méthode d'IMC a été mise au point avec les billes Dynabeads M-280, et évaluée en utilisant soit la PCR soit la méthode ELISA pour la révélation avec des anticorps polyclonaux produits à l'IPM ou du commerce, avec comme méthode de référence la culture sur milieu de Löwenstein-Jensen (LJ).

Les résultats de la méthode PCR ont été donnés dans le rapport d'activités 2009.

Avec la méthode ELISA, les résultats obtenus avec 76 prélèvements de tuberculeux (48 pulmonaires et 28 extrapulmonaires), et 76 prélèvements de sujets non tuberculeux a montré une spécificité de 89,5% et une sensibilité globale de 85,9%. Pour les prélèvements extrapulmonaires, pour une spécificité de 90,5%, la sensibilité est de 65,8%.

La spécificité de la méthode de PCR après immunocapture est de 100%. La sensibilité, respectivement de 100% (30/30) et 83,3% (25/30) pour la détection des tuberculoses pulmonaires et extrapulmonaires, est meilleure que celle de la PCR seule.

En conclusion, la méthode d'IMC avec une révélation par ELISA n'est pas assez performante pour le dia-

gnostic de la tuberculose des formes paucibacillaires comme les TB extrapulmonaires, mais sensible quand on utilise la PCR pour la révélation.

**UTILISATION DE L'ADN EXTRAIT À PARTIR DE FROTTIS SUR LAME POUR LE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DE LA MULTIRÉSISTANCE (MDR) DE *M. TUBERCULOSIS***

IPM : *N Dubois, P Ravololonandriana, H Ramarokoto, V Richard, V Rasolofo*

A Madagascar, seul l'Institut Pasteur réalise les cultures et les tests de sensibilités aux antibiotiques, ce qui n'est donc pas possible pour tous les patients TB. De plus, les résultats de ces tests requièrent un délai de quelques semaines à plusieurs mois. Des tests moléculaires de détection rapide de la MDR (multirésistance à la rifampicine et l'isoniazide) existent, comme le test MTBDRplus (développé par HAIN LIFESCIENCE) qui peut être effectué à partir de culture ou de crachats à microscopie positive. Actuellement, ce type de test ne peut être fait qu'à l'IPM, ce qui nécessite la mise en place d'un système de transport de prélèvements si l'on veut qu'il soit disponible pour la majorité des patients susceptibles de faire une TB à souches MDR. La microscopie est le principal outil pour le diagnostic de la TB dans tout le pays. Les lames sont du matériel non infectieux facilement disponible, pouvant être transporté sur de grandes distances sans nécessité de conservation particulière. Or, il est possible d'utiliser l'ADN extrait de lames colorées Ziehl-Neelsen pour le génotypage des souches.

L'objectif de ce projet était donc de mettre au point et d'évaluer l'utilisation de l'ADN extrait à partir de la-

mes positives à la microscopie pour la détection rapide des mutations dans les gènes responsables de la résistance à l'isoniazide et la rifampicine en utilisant le test MTBDRplus.

La méthode d'extraction d'ADN et de PCR pour le test MTBDRplus a été mise au point, puis elle a été validée en testant l'ADN extrait de 30 crachats cliniques d'une part, et l'ADN extrait de leurs lames correspondantes. L'évaluation de la méthode a ensuite été faite par une étude rétrospective avec 297 lames de diagnostic de microscopie positive, de 2003 à 2009, provenant de prélèvements dont l'antibiogramme pour la résistance à la rifampicine (RIF) et à l'isoniazide (INH) sur milieu LJ a été réalisé à l'IPM (198 sensibles, 53 MDR, 10 résistants à la RIF et 36 résistants à INH). En prenant le test sur LJ comme référence, les sensibilités pour la détection de la résistance à la RIF, l'INH et des MDR sont respectivement 94,7%, 79,2% et 80,9%, avec des spécificités respectives de 98,2%, 98,0% et 98,3%.

En conclusion, cette étude est la première étude démontrant la possibilité d'utiliser l'ADN extrait de frottis sur lame colorée dans le test MTBDRplus pour le diagnostic des résistances à la RIF et à l'INH avec une sensibilité et spécificité comparables à celles trouvées par d'autres équipes sur des crachats ou des cultures. L'utilisation de l'ADN extrait des lames directement dans des tests biomoléculaires offre donc la possibilité de réaliser la détection rapide des souches MDR pour les patients TB des centres de santé éloignés d'Antananarivo, grâce à un système de transport de lames, mais ouvre aussi la voie à des études épidémiologiques ou de résistance à grande échelle, ainsi qu'à des études rétrospectives.

---

## ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

(voir page 69)

---

---

# MALADIES VIRALES

---

---

*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) OMS pour la poliomyélite et la rougeole, le Centre National de Référence OMS pour la grippe (CNRG), le LNR pour la rage et le LNR pour les arbovirus et virus de fièvres hémorragiques. Ces laboratoires sont impliqués dans des activités de surveillance et de recherche. Le personnel de l'unité participe également à des activités de formation.*

---

## DECOMPOSITION DU PROGRAMME

### CENTRE COLLABORATEUR OMS POUR LA GRIPPE

#### ACTIVITES DE RECHERCHE

- Génotype P et G des rotavirus associés aux gastro-entérites infantiles
- Co-circulation, interactions et évolution des entérovirus C et des poliovirus
- Evolution des papiers buvards comme support de prélèvement dans le diagnostic moléculaire du virus Chikungunya
- Interface Homme-Animal - recherche sur les zoonoses

#### ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE (voir page 63)

- Laboratoire National de Référence OMS pour la Poliomyélite
  - Laboratoire National de Référence OMS pour la Rougeole
  - Centre National de Référence OMS pour la Grippe
  - Laboratoire National de Référence OMS pour les Arbovirus responsables des fièvres hémorragiques
  - Laboratoire National de Référence OMS pour la Rage
-

## ACTIVITES DE RECHERCHE

### GÉNOTYPES P ET G DES ROTAVIRUS ASSOCIÉS AUX GASTRO-ENTÉRITES INFANTILES

**Coordonateur :** Richter Razafindratsimandresy

Les infections par les rotavirus constituent une des causes majeures de gastroentérites (GE) sévères chez les enfants en bas âge. On estime à 600 000 le nombre de décès annuel liés aux infections par des rotavirus. La plupart de ces décès concerne les pays en voie de développement. Devant ce constat, l'Organisation Mondiale de la Santé encourage ses états-membres, notamment en Afrique, à mettre en place des protocoles d'études axés sur la surveillance et la mesure du fardeau des GE à rotavirus afin d'évaluer entre autres les besoins qualitatifs et quantitatifs en vaccins anti-rotavirus.

Une action concertée inter-pasteurienne (ACIP) a été initiée en 2007 entre les Instituts Pasteur du Sénégal, de Côte d'Ivoire, de Centrafrique et de Madagascar. L'objectif principal de ce projet était de connaître l'importance des rotavirus dans l'étiologie des GE dans ces quatre pays, de déterminer les génotypes G et P associés à ces GE, et enfin, d'identifier éventuellement des souches réassortantes de génotypes P et G rares pouvant affecter l'efficacité des programmes de vaccination ciblant les souches communément rencontrées.

Pour cette étude, nous avons collecté 2 803 selles dont 2 031 ont pu être testées (les autres n'ont pas pu l'être en raison de l'insuffisance de matériel biologique). La recherche de l'antigène rotavirus dans les selles a été faite avec la technique ELISA (IDEIA™ Rotavirus, Oxoid remplacé par le Prospect™ Rotavirus, Oxoid). Les selles trouvées infectées ont été utilisées pour la détermination du génotype viral. Le génotypage a été effectué par technique moléculaire portant sur les 2 gènes VP7 (génotype G) et VP4 (génotype P) : il s'agit d'une RT-PCR utilisant des amorces consensus suivie d'une PCR-nichée utilisant des amorces spécifiques de génotypes, donnant des produits d'amplification de tailles différentes suivant le génotype. C'est la combinaison des génotypes trouvés pour ces 2 gènes VP7 et VP4 qui donne le génotype d'une souche.

Sur ces 2 031 selles, 119 (5,9%) présentaient une infection par un rotavirus en ELISA. L'amplification des gènes VP7 et VP4 ont permis d'obtenir respectivement 88 et 86 séquences dont 85 sont des combinaisons des génotypes suivants :

- le génotype G9P[8] dans 53 selles (62,4%) ;

- le génotype G1P[8] dans 19 selles (22,4%) ;
- le génotype G1P[6] dans 8 selles (9,4%) ;
- 5 échantillons présentaient des génotypes inhabituels comme les génotypes G4P[6], G9P[6] et G3P[9] dans respectivement 3 (3,5%), 1 (1,2%) et 1 (1,2%) selles. De façon singulière, un des génotypes G4P[6] semble être un reassortant entre un virus humain (VP7) et un virus porcin (VP4).

En conclusion, d'après les résultats obtenus, nous pensons que l'introduction des vaccins anti-rotavirus pourrait être envisagée à Madagascar car ces vaccins contiennent les génotypes majoritairement détectés (94,2%). Cependant, il faudrait étendre cette étude à d'autres régions de Madagascar avant toute une recommandation nationale.

Une valorisation de cette étude au travers d'un article est en cours qui sera soumis prochainement dans une revue internationale.

### CO-CIRCULATION, INTERACTIONS ET ÉVOLUTION DES ENTÉROVIRUS C ET DES POLIOVIRUS

**Coordonateur :** Richter Razafindratsimandresy

Depuis l'année 2000, il y a eu 10 cas de poliomyélite liés aux poliovirus dérivés des souches vaccinales (VDPV) dans différentes régions du monde, y compris Madagascar en 2002 et 2005 (districts de Taolagnaro et de Toliara I et II). Dans la plupart des cas, ces VDPVs étaient des recombinants entre le virus du vaccin par voie orale (OPV) et d'autres entérovirus qui sont le plus souvent des entérovirus humains appartenant au groupe C (HEV-C).

Un Programme Transversal de Recherche (PTR) a été initié en 2008 entre les Instituts Pasteur de Côte d'Ivoire, de Dakar, de Madagascar, l'Institut Cantacuzène en Roumanie et Institut Pasteur à Paris. L'unité de virologie est impliquée dans l'étude du renouvellement (turn-over) et de l'évolution des entérovirus du groupe C circulant dans ces pays à partir de trois collections de selles constituées entre 2002 et 2005 et provenant de Taolagnaro, Toliara et Tsihombe.

Sur un total de 879 selles collectées, nous avons pu isoler 186 virus dont 182 ont pu être caractérisés moléculairement. Nous avons ainsi pu caractériser 174 entérovirus, essentiellement du groupe C (N=121) suivi du Groupe B (N=50) et quelques entérovirus du Groupe 1 (N=3) (tableau I).

Tableau I : Nombre et fréquence des entérovirus détectés par groupe dans les 3 collections

Groupe	2002	2004	2005	Total
HEV-A	0 (0,0%)	1 (1,6%)	2 (4,6%)	3 (1,7%)
HEV-B	13 (18,6%)	22 (36,1%)	15 (34,9%)	50 (28,7%)
HEV-C	57 (81,4%)	38 (62,3%)	26 (60,5%)	121 (69,6%)
<b>Total</b>	<b>70 (100%)</b>	<b>61 (100%)</b>	<b>43 (100%)</b>	<b>174 (100%)</b>

Les analyses moléculaires plus approfondies sont en cours afin de comparer les séquences des isolats obtenus lors des différentes années afin de mesurer leur degré d'évolution.

**EVALUATION DES PAPIERS BUVARDS COMME SUPPORT DE PRÉLÈVEMENT DANS LE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DU VIRUS CHIKUNGUNYA**

Coordonateur : Soa Fy Andriamandimby

Depuis 2007, l'IPM coordonne avec la DULMN et la DVSSE le réseau sentinelle de surveillance des fièvres. Quatre sites parmi les 31 existants participent à la surveillance biologique des arboviroses à Madagascar. Les contraintes logistiques lourdes en matière de surveillance biologique pour les arboviroses ne permettent pas d'étendre aujourd'hui la surveillance biologique à l'ensemble des sites. L'objectif de ce travail a donc été d'évaluer en termes de coût/bénéfice une méthode de terrain, les prélèvements sur papiers buvards, dans le but de proposer une alternative à la technique de prélèvement et de transport actuelle.

Tous les prélèvements analysés au cours de ce travail provenaient de patients fébriles de la côte Est de Madagascar. Les prélèvements positifs ont été principalement collectés au cours de l'épidémie qui a touché la zone de Mananjary en février 2010 alors que les prélèvements négatifs ont été collectés pour la plupart en dehors de la période épidémique. Les résultats des analyses réalisées, à partir de prélèvements sur papier buvard, ont été comparés à ceux des sérums, de façon identique quel que soit le statut du patient, positif ou négatif pour le virus Chikungunya. L'ensemble des prélèvements, papier buvard ou sérum, ont été traités par RT-PCR temps réel, une technique déjà utilisée en routine au laboratoire national de référence pour les arbovirose et les fièvres hémorragiques virales à l'IPM. Le résultat des analyses réalisées à partir des sérums était considéré comme référence (gold standard) dans notre analyse comparative.

Dans le cadre de cette étude, 73 prélèvements positifs et 108 prélèvements négatifs ont été analysés en

RT-PCR en temps réel (tableau II). La sensibilité et la spécificité du test effectué sur les prélèvements sur papiers buvards sont respectivement de 93,1% (IC95% [84,7 ; 97,7%]) et de 94,4% (IC95% [88,3% à 97,9%]). Le coefficient de concordance Kappa est excellent avec une valeur de 0,87 avec un IC à 95% de 0,80 à 0,95.

Tableau II : Résultats qualitatifs des analyses en RT-PCR en temps réel des prélèvements sur papiers buvards par rapport aux prélèvements veineux

		Sérum humain		
		Positif	Négatif	Total
Papier Buvard	Positif	68	6	74
	Négatif	5	102	107
Total		73	108	181

Les résultats de ce travail ont montré que les prélèvements sanguins sur du papier buvard sont une alternative intéressante dans le cadre d'un réseau de surveillance des maladies à potentiel épidémique dans un pays à faible ressource et où les problèmes d'acheminement et de logistique restent des facteurs limitant pour la surveillance biologique. La perte en sensibilité par rapport à la méthode de référence reste mineure et ne concerne que les charges virales faibles. En terme de surveillance de laboratoire, le risque de ne pas détecter une épidémie par l'utilisation du papier buvard est presque nul. Cependant, l'utilisation du papier buvard pour une tentative d'isolement viral reste encore à évaluer.

**INTERFACE HOMME-ANIMAL – RECHERCHE SUR LES ZOONOSES**

**Volet 1 : Distribution géographique du Virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo à Madagascar en 2008-2009**

Coordonateur : Soa Fy Andriamandimby

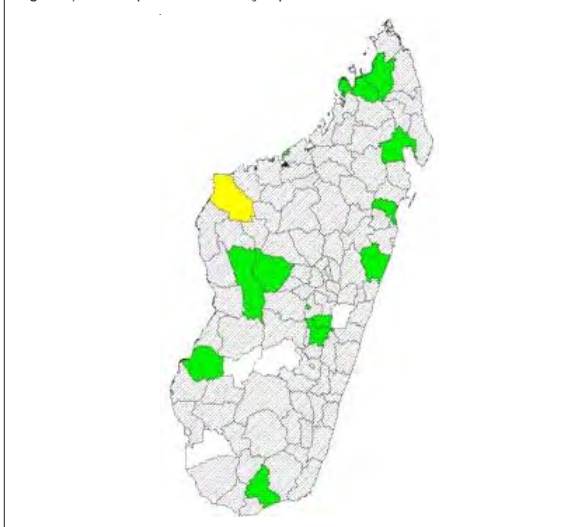
La fièvre hémorragique de Crimée-Congo (CCHF) est une maladie zoonotique due à un virus (CCHFV) transmis par des tiques aux ruminants domestiques qui développent le plus souvent des formes asymptomatiques. Chez l'homme l'infection par CCHFV est responsable d'un syndrome hémorragique grave. La contamination se fait par morsure d'une tique infectée, par contact avec le sang ou des organes frais des ruminants ou d'hommes infectés. Les données sur CCHFV à Madagascar se résument quasiment au seul isolement du virus en 1986 à partir d'un lot de tiques recueillies sur des bovins à l'abattoir d'Antananarivo. L'objectif de cette étude était



d'établir une cartographie récente de la distribution du CCHFV. Cette étude descriptive aura pour retombées de mieux cibler des actions de surveillance et de lutte contre cette maladie méconnue à Madagascar, de mieux connaître l'épidémiologie de la maladie et d'orienter d'éventuels programmes de recherche sur cette thématique.

De septembre 2008 à mai 2009, une sérothèque a été constituée pour 106 des 111 districts de Madagascar au cours d'une étude portant sur la distribution géographique de la fièvre de la vallée du Rift en 2008. Les sérums ont été prélevés chez des personnes volontaires (consentement éclairé), travaillant dans l'abattoir ou une tuerie du chef lieu de district sanitaire, chargées de l'abattage et de dépeçage des ruminants (exposition vraie), exerçant cette activité au moins avant décembre 2007 et jusqu'au moment du prélèvement (exposition vraie), résidant dans le district où se trouve l'abattoir ou la tuerie qu'il fréquente depuis le début de cette activité professionnelle (exposition locale).

Figure 1: **Distribution de CCHFV dans les 111 districts de Madagascar, 2008 et 2009.** La présence d'Anticorps (Ig) dirigés contre CCHFV dans le sérum des individus à haut risque d'exposition sont indiqués en jaune (IgM positive), en vert (IgG positive et IgM négative), en grisé (IgG et IgM négative). Pas de prélèvements reçus pour les districts colorés en blanc.



Les analyses des sérums par la technique ELISA des sérums collectés ont montré une infection récente (présence d'IgM dirigées contre CCHFV) chez un participant (1/1995). Des infections anciennes (présence d'IgG dirigées contre CCHFV et absence d'IgM dirigées contre CCHFV) ont été détectées chez 15 participants (0,75%). Ainsi sur les 106 districts testés, une preuve sérologique de circulation du virus CCHFV a été observée dans 14 districts (figure 1). Des tests de confirmation sérologique ont été effectués pour les sérums contenant des Ig anti-CCHFV par l'unité de Biologie des Infections Virales Emergentes, Institut Pasteur à Lyon (UBIVE), et dans un laboratoire du CDC (Special Pathogens Branch) montrant que les Ig anti-CCHFV dé-

tectées par ELISA sont bien dirigées contre CCHFV et non pas contre un autre nairovirus du même séro groupe inconnu jusqu'à présent mais qui pourrait exister à Madagascar.

La prévalence globale de l'infection par le CCHFV que nous avons observée à Madagascar est très faible comparée à celle des pays endémiques. Cette faible circulation peut être expliquée par l'absence de *Hyalomma*, vecteur principal de la maladie à Madagascar. Cependant, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, l'espèce trouvée infectée à Madagascar est largement distribuée. Bien que le rôle vecteur, dans la transmission de la maladie n'ait jamais été démontré, cette espèce de tique pourrait jouer un rôle de réservoir.

Ce travail a fait l'objet d'une soumission d'article à une revue scientifique.

## Volet 2 : Identification de réservoirs sauvages potentiels du virus de la fièvre de la vallée du Rift à Madagascar

(Appel à projet de recherche 2008 Centre de Recherche et de Veille sur les maladies Emergentes dans l'Océan Indien (CRVOI))

Coordonateurs IPM : JM Héraud, MM Olive

Ce projet débuté en 2008 (voir Rapport Annuel 2009), a pour principal objectif, l'identification de réservoirs sauvages potentiels du virus de la fièvre de la vallée du Rift (VFVR) à Madagascar et cible donc en priorité les petits mammifères terrestres. En plus des petits mammifères terrestres, des sérums prélevés en 2008 par l'Unité Peste de l'IPM sur des individus de l'espèce *Rattus rattus* dans des régions ayant connu des épisodes de FVR en 2008 ont aussi été testés pour la recherche d'IgG anti-VFVR. Le tableau III, présente l'état de la collection des prélèvements de sérums et d'organes effectués lors des quatre saisons de capture.

Depuis le début du projet, 1 605 prélèvements de sérums provenant de petits mammifères terrestres sauvages ont été testés pour la recherche d'IgG dirigées contre le VFVR. Parmi ces prélèvements, 958 proviennent de petits mammifères terrestres vivant en milieu forestier et 647 proviennent de petits mammifères vivant en milieu rural. Les résultats de ces investigations sont négatifs pour tous les sérums testés. Certains des animaux prélevés en milieu ruraux ont été capturés dans des zones où le VFVR a circulé lors des épisodes de 2008 et durant ces périodes.

Au regard des résultats issus des analyses sérologiques et virologiques négatifs pour la recherche d'IgG

Tableau III : Etat de la collection de prélèvements de petits mammifères

Espèce	Année 1 (octobre 2008 et mars 2009)							
	Ef	Sé	Fe	Re	Rn	Cœ	Pn	Cu
<b>Rongeurs (Rodentia)</b>								
<i>Eliurus majori</i>	9	9	9	9	9	9	9	0
<i>Eliurus minor</i>	11	11	11	11	11	11	11	0
<i>Eliurus tanala</i>	6	6	6	6	6	6	6	0
<i>Eliurus grandidieri</i>	1	1	1	1	1	1	1	0
<i>Gymnuromis roberti</i>	3	3	3	3	3	3	3	0
<i>Nesomys rufus</i>	29	29	29	29	29	29	29	0
<i>Rattus rattus</i>	304	303	303	303	303	303	303	300
<b>Insectivores (Afrosoricida)</b>								
<i>Hemicentetes semispinosus</i>	18	18	18	18	18	18	18	0
<i>Microgale dobsoni</i>	133	130	130	130	130	130	130	0
<i>Microgale fotsifotsy</i>	3	3	3	3	3	3	3	0
<i>Microgale gymnorhynca</i>	2	2	2	2	2	2	2	0
<i>Microgale longicaudata</i>	3	2	2	2	2	2	2	0
<i>Microgale parvula</i>	1	1	1	0	1	1	1	0
<i>Microgale soricoides</i>	36	36	36	36	36	36	36	0
<i>Microgale thomasi</i>	13	13	13	13	13	13	13	0
<i>Oryzomys hova</i>	18	18	18	18	17	17	17	0
<i>Setifer setosus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Tenrec eucaudatus</i>	1	1	1	1	1	1	1	0
<b>Primates (Primata)</b>								
<i>Microcebus sp</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cheirogaleus sp</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Totaux</b>	<b>592</b>	<b>586</b>	<b>586</b>	<b>585</b>	<b>586</b>	<b>585</b>	<b>585</b>	<b>300</b>

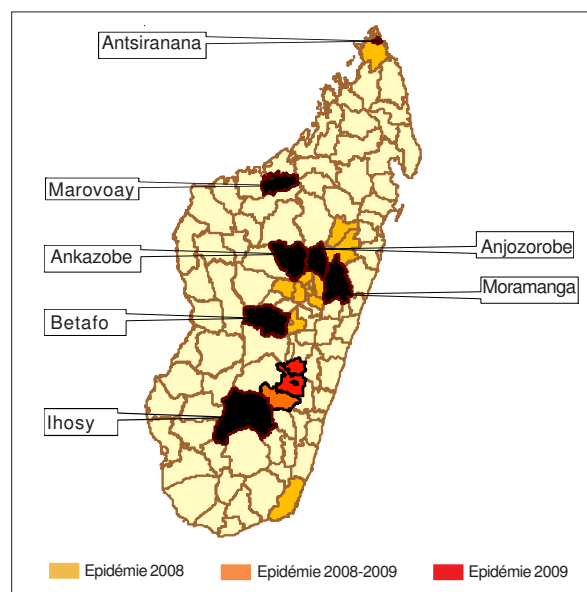
Espèce	Année 2 (octobre 2009 et mars 2010)							
	Ef	Sé	Fe	Re	Rn	Cœ	Pn	Cu
<b>Rongeurs (Rodentia)</b>								
<i>Eliurus majori</i>	6	6	6	6	6	6	6	0
<i>Eliurus minor</i>	6	6	6	6	6	6	6	0
<i>Eliurus tanala</i>	9	9	9	9	9	9	9	0
<i>Eliurus grandidieri</i>	2	2	2	2	2	2	2	0
<i>Gymnuromis roberti</i>	8	8	8	8	8	8	8	0
<i>Nesomys rufus</i>	24	24	24	24	24	24	24	0
<i>Rattus rattus</i>	167	167	167	167	167	167	167	167
<b>Insectivores (Afrosoricida)</b>								
<i>Hemicentetes semispinosus</i>	7	7	7	7	7	7	7	0
<i>Microgale dobsoni</i>	86	86	86	86	86	86	86	0
<i>Microgale fotsifotsy</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Microgale gymnorhynca</i>	1	1	1	1	1	1	1	0
<i>Microgale longicaudata</i>	5	5	5	5	5	5	5	0
<i>Microgale parvula</i>	1	1	1	1	1	1	1	0
<i>Microgale soricoides</i>	25	25	25	25	25	25	25	0
<i>Microgale thomasi</i>	2	2	2	2	2	2	2	0
<i>Oryzomys hova</i>	20	20	20	20	20	20	20	0
<i>Setifer setosus</i>	2	2	2	2	2	2	2	0
<i>Tenrec eucaudatus</i>	1	1	1	1	1	1	1	0
<b>Primates (Primata)</b>								
<i>Microcebus sp</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cheirogaleus sp</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<b>Totaux</b>	<b>373</b>	<b>372</b>	<b>372</b>	<b>372</b>	<b>372</b>	<b>372</b>	<b>372</b>	<b>167</b>

Espèce	Totaux effectif							
	Ef	Sé	Fe	Re	Rn	Cœ	Pn	Cu
<b>Rongeurs (Rodentia)</b>								
<i>Eliurus majori</i>	15	15	15	15	15	15	15	0
<i>Eliurus minor</i>	17	17	17	17	17	17	17	0
<i>Eliurus tanala</i>	15	15	15	15	15	15	15	0
<i>Eliurus grandidieri</i>	3	3	3	3	3	3	3	0
<i>Gymnuromis roberti</i>	11	11	11	11	11	11	11	0
<i>Nesomys rufus</i>	53	53	53	53	53	53	53	0
<i>Rattus rattus</i>	471	470	470	470	470	470	470	467
<b>Insectivores (Afrosoricida)</b>								
<i>Hemicentetes semispinosus</i>	25	25	25	25	25	25	25	0
<i>Microgale dobsoni</i>	219	216	216	216	216	216	216	0
<i>Microgale fotsifotsy</i>	3	3	3	3	3	3	3	0
<i>Microgale gymnorhynca</i>	3	3	3	3	3	3	3	0
<i>Microgale longicaudata</i>	8	7	7	7	7	7	7	0
<i>Microgale parvula</i>	2	2	2	2	2	2	2	0
<i>Microgale soricoides</i>	61	61	61	61	61	61	61	0
<i>Microgale thomasi</i>	15	15	15	15	15	15	15	0
<i>Oryzomys hova</i>	38	38	38	38	38	38	38	0
<i>Setifer setosus</i>	2	2	2	2	2	2	2	0
<i>Tenrec eucaudatus</i>	2	2	2	2	2	2	2	0
<b>Primates (Primata)</b>								
<i>Microcebus sp</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cheirogaleus sp</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<b>Totaux</b>	<b>965</b>	<b>958</b>	<b>958</b>	<b>957</b>	<b>958</b>	<b>957</b>	<b>957</b>	<b>467</b>

Ef : Effectif      Sé : sérum      Fe : foie      Re : rate  
Rn : rein      Cœ : cœ      Pn : poumon      Cu : cerveau

dirigées contre le VFVR, nous pouvons penser que le VFVR n'a pas circulé au sein de la population de petits mammifères terrestres sauvages de la forêt d'Anorana. Aucun résultat positif n'a été trouvé dans les sérums de petits mammifères terrestres prélevés en milieux ruraux dans les districts touchés par la FVR (Ankazobe, Moramanga et Antsiranana), pendant ou juste après sa circulation.

Le nombre d'échantillons testés a pratiquement doublé depuis l'année dernière et les résultats sérologiques négatifs n'étaient pas l'hypothèse des petits mammifères, en particulier *R. rattus*, comme réservoirs potentiels du VFVR à Madagascar. Ils suggèrent que si ces petits mammifères jouaient un rôle de réservoir, ce rôle serait faible. En effet, considérant que si les petits mammifères terrestres sauvages étaient réservoirs de VFVR nous trouverions des traces de circulation virale au sein de ces populations (anticorps dirigés contre le VFVR) dans les zones où le virus a circulé.



### Volet 3 : Recherche des virus grippaux chez les porcs domestiques à Madagascar (Région Alaotra Mangoro - Lac Alaotra)

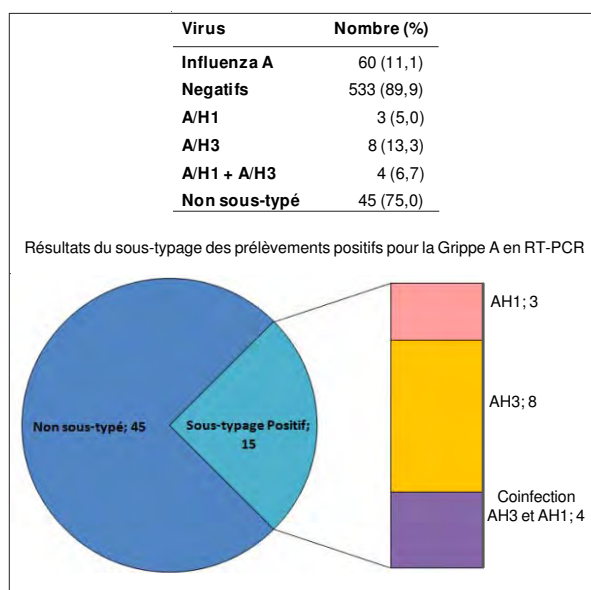
Coordonateurs : Jean Michel Héraud, Pierre Michel Ralivelo

La grippe est une maladie hautement contagieuse, d'origine virale, due à des virus enveloppés appartenant à la famille des orthomyxoviridae. Ces virus ont une propriété particulière du fait de la structure segmentée de leurs génomes qui peuvent s'échanger entre eux dans le cas où des virus différents infectent un même hôte. Le virus de la Grippe A peut être pathogène chez l'homme, les volailles et le porc. Les porcs sont généralement considérés comme l'hôte de rencontre des différentes souches de virus et pourraient être considérés

comme l'origine la plus probable des réassortiments entre des virus grippaux aboutissant à l'émergence de nouvelles souches de virus pandémiques. A Madagascar, aucune étude n'a été faite sur la circulation des virus grippaux chez les porcs domestiques. Il est donc intéressant d'étudier le portage des virus grippaux chez cette espèce. Ainsi, une étude a été effectuée dans la région Alaotra Mangoro en juillet-août 2009 en collaboration avec une équipe du DRZV et du CIRAD. Des prélèvements de sang et des écouvillons nasaux ont été réalisés sur 397 porcs domestiques. Depuis le mois de septembre 2009, la collecte continue à raison de 10 échantillons tous les quinze jours au niveau de l'abattoir d'Ambatondrazaka. Nous avons pu récolter au total 593 écouvillons nasaux.

La recherche des virus grippaux de type A par RT-PCR en temps réel nous a permis de détecter au total 60 échantillons positifs soit un taux de positivité global de 10,1%. Sur ces 60 échantillons, nous avons pu sous-typier 15 virus dont 8 A/H3, 3 A/H1 et 4 co-infections A/H3 + A/H1 (tableau IV).

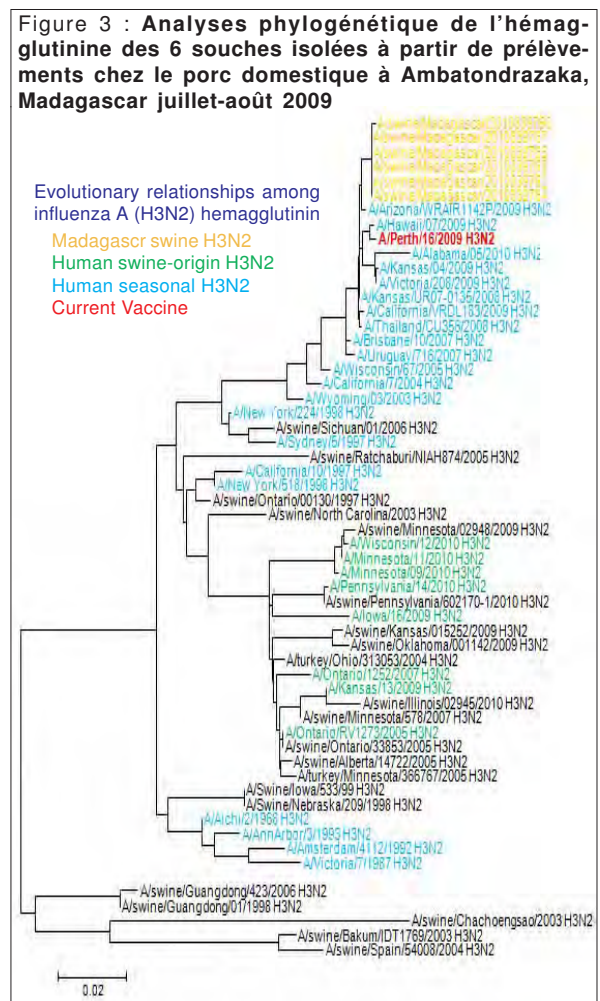
Tableau IV : Nombre et fréquence des virus grippaux détectés sur les prélèvements nasals de porc



Après isolement sur les 60 échantillons positifs pour influenza A, nous avons pu identifier 6 virus humains saisonniers A/H3N2. L'analyse phylogénétique de ces 6 isolats (réalisée au CDC – Influenza Branch) ont confirmé la circulation de virus humains A/H3N2 (Perth-like) chez les porcs prélevés au cours des mois de juillet-août 2009 (figure 3).

Nous avons pu mettre en évidence, la circulation de virus grippaux humains chez le porc à Madagascar.

Cet animal pouvant être le siège de réassortiment entre virus grippaux A d'origine humaine, porcine et aviaire. L'ensemble de ces éléments montrent l'importance de mettre en place un système continu de surveillance du portage des virus grippaux chez le porc à Madagascar, d'une part pour mieux documenter les étiologies grippales chez le porc, mais également afin de prévenir un risque de réassortiment Grippal pouvant faire émerger un virus pandémique (ex : A(H1N1)pdm09).



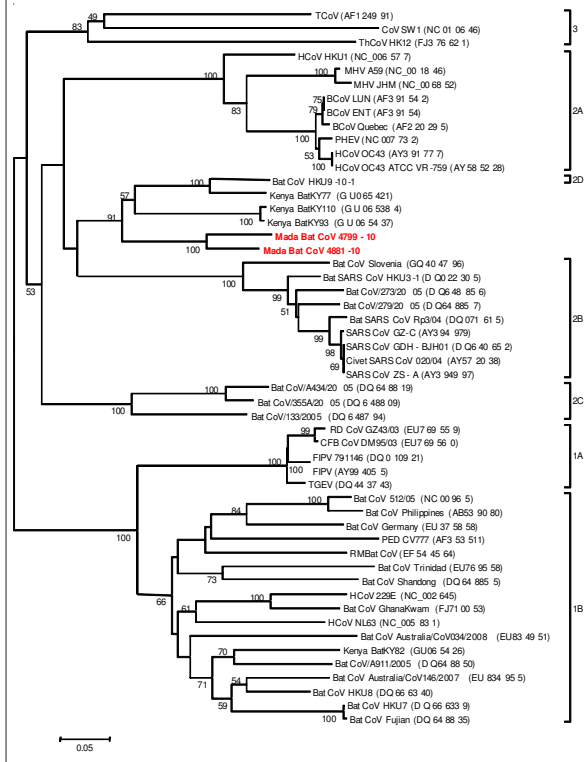
#### VOLET 4 : CORONAVIRUS ET CHAUVES-SOURIS À MADAGASCAR

Coordonateur : Norosoa Razanajatovo

Les chauves-souris présentent un intérêt particulier en tant que réservoirs d'agents pathogènes potentiellement émergents. En raison de leur abondance, de leur répartition géographique et de leur mobilité, les chauves-souris confèrent un plus grand risque de transmission zoonotique que les autres animaux. Ainsi, les Chauves-souris ont été rapportées comme étant des réservoirs naturels pour le virus de la rage ainsi que d'autre lyssavirus et sont récemment identifiées comme réservoirs des virus Ebola, Hendra et Nipah. L'identification

Figure 4 : Arbre phylogénétique obtenu avec les séquences de la région RNA-dépendant RNA polymérase (392pb).

Les souches identifiées par cette étude sont marquées en rouge. L'échelle correspond au nombre de substitution nucléotidique par site.



de ce même type de réservoir pour le SARS-CoV (severe acute respiratory syndrom) responsable d'une épidémie mortelle en Chine en 2002, ont emmené à étendre les recherches sur les Coronavirus dans les populations d'animaux sauvages et domestiques en Chine. Celles-ci ont permis de mettre en évidence une large variété de Coronavirus chez les chauves-souris. Pour l'heure, aucune étude n'a été faite sur la circulation des Coronavirus chez les chauves-souris à Madagascar. Notre objectif était ainsi d'identifier et de caractériser les coronavirus pouvant circuler chez des chauves-souris endémiques de Madagascar. Suite à une collaboration avec l'association Madagasikara Voakajy et l'Université de Bangor ("Darwin Initiative project"), 48 prélèvements fécaux ont été collectés chez des *Pteropus rufus* (sous-famille Rhinophilinae, famille Rhinophilidae) dans le district de Mahabo (Sud-ouest de Madagascar).

Nous avons analysé les prélèvements par RT-PCR conventionnelle en prenant comme gène cible le RNA-dépendant RNA polymérase. Nous avons détecté 2 prélèvements positifs en Coronavirus. Les analyses phylogénétiques ont pu montrer que ces deux coronavirus identifiés appartiennent au groupe 2 des Coronavirus mais semblent former un cluster distinct (figure 4).

## ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

(voir page 63)

---

---

# EPIDEMIOLOGIE

---

---

- *Organisation de l'Unité*

*L'unité d'épidémiologie est intégrée dans un environnement de laboratoires de recherche. Répondant aux différentes missions de l'Institut Pasteur de Madagascar, elle cible ses activités sur les problématiques de recherche et de santé publique prioritaires définies par la politique nationale de santé. Elle est composée de médecins de santé publique qui travaillent dans différents domaines :*

- *la surveillance épidémiologique avec notamment l'animation du réseau sentinelle de surveillance des maladies à potentiel épidémique qui va conduire à développer des compétences dans l'analyse spatio-temporelle des données*
- *les modélisations spatio-temporelles et l'utilisation de méthodes bayésiennes et de systèmes d'information géographique appliqués à la santé,*
- *le monitoring d'études cliniques, de l'écriture du protocole jusqu'à l'analyse des données et la publication des résultats,*
- *la gestion des bases de données de recherches biomédicales de l'ensemble de l'IPM.*

*En terme de formation, l'unité d'épidémiologie mène des activités de formation en interne pour améliorer le niveau de compétence des cadres qui la constituent mais accueille aussi régulièrement des stagiaires malgaches et étrangers dans le cadre de Masters, de travaux de thèses d'exercices ou thèses d'université. Les personnels de l'unité participent également aux ateliers qui se déroulent à l'Institut Pasteur de Madagascar : paludisme, surveillance épidémiologique, peste...*

- *Relation avec les autres Unités de Recherche.*

*L'unité d'épidémiologie collabore avec les autres unités au travers de projets de recherche communs. Depuis 2007, l'ensemble des projets de recherche des autres unités qui ont besoin de l'expertise de l'unité d'épidémiologie sont discutés et élaborés ensemble préalablement afin d'optimiser la méthodologie des travaux de terrain et l'analyse statistique.*

- *Appui au Ministère de la santé*

*L'unité d'épidémiologie apporte un appui au Ministère de la Santé de Madagascar en effectuant notamment, à sa demande, des missions d'investigation d'épidémies. Depuis 2007, l'unité est intervenue sur des investigations d'épidémies de peste, d'arboviroses (Chikungunya, Fièvre de la vallée du Rift), de grippe et de paludisme.*

*Dans le cadre d'un partenariat avec le Ministère de la Santé, l'unité d'épidémiologie en relation avec l'unité de virologie a mis en place et anime un réseau de surveillance sentinelle des maladies à potentiel épidémique. Les principales directions et les services avec lesquels l'unité est appelée à collaborer sont :*

- *Direction des Urgences et de la Lutte contre les Maladies Négligées (DULMN)*
- *Service de lutte contre les maladies émergentes et ré-émergentes (SLMER)*
- *Direction de la veille sanitaire et de surveillance épidémiologique (DVSSE)*
- *Programme national de lutte contre le paludisme.*

---

## DECOMPOSITION DU PROGRAMME

### ACTIVITES DE RECHERCHE

- **Site de suivi démographique de Moramanga**
- **Etude des diarrhées infantiles**
- **Infections respiratoires**
- **Etude sur la bilharziose génitale**

### ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE (voir page 86)

- **Réseau de surveillance sentinelle**
- **Réseau hospitalier de surveillance sentinelle**
- **Investigation d'épidémie**

# ACTIVITES DE RECHERCHE

## SITE DE SUIVI DÉMOGRAPHIQUE DE MORAMANGA



Le site de suivi démographique (DSS) est situé dans le district de Moramanga (18° 56' latitude sud, 48° 12' longitude est), dans la région Alaotra Mangoro. Le district est composé de 21 villes et de 175 Fokontany et couvre 9 400 km<sup>2</sup>. L'étude implique 4 villes : Moramanga, Andasibe, Ampasimpotsy et Ambohibary (39 Fokontany). Il y règne un climat chaud et humide avec un hiver assez frais type "tropical d'altitude". La pluviométrie annuelle moyenne est de 1 500 mm.

Le recensement de la zone pilote a été effectué de juillet à septembre 2010. Toutes les constructions ont été numérotées, de même que les ménages. Tous les individus ont reçu un identifiant numérique permanent.

Pour chaque visite, les enquêteurs utilisent une liste contenant les résidents de chaque ménage ("roll calls") généré par la base de données. A la fin de chaque journée, les formulaires de chaque enquêteur sont vérifiés par les superviseurs, et toute divergence notée est corrigée immédiatement. Les modifications (âge, personne non enregistrée...) sont notées et envoyées au data manager pour examen.

Deux types de supervisions sur le terrain sont effectués pour garantir la qualité des données. Premièrement, les superviseurs assistent les enquêteurs pendant les entretiens lors de visites imprévues. Deuxièmement, les enquêteurs réalisent des visites de vérification dans un échantillon de ménages sélectionnés au hasard, déjà visités par les enquêteurs. Les informations recueillies par l'enquêteur et celles recueillies par le superviseur sont ensuite confrontées.

## Résultats préliminaires

Fin mars 2011, 4 Fokontany ont été enquêtés. Cependant, toutes les données ne sont pas encore disponibles.

Au total, 1 854 ménages ont été recensés ; dont 648 descriptions de ménage sont analysables. De même, il y a 7 620 habitants dans les 3 premiers Fokontany enquêtés ; parmi eux 2 769 descriptions individuelles sont analysables au jour de rédaction de ce rapport.

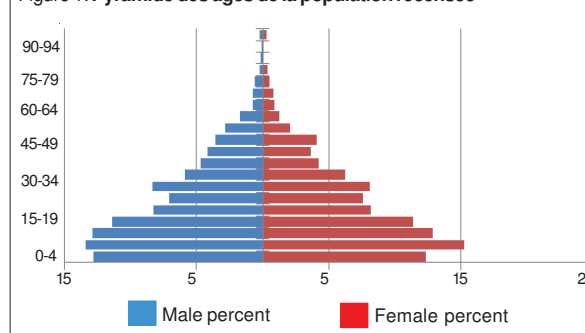
## Description de la population

Tableau I : Nombre de ménage par Fokontany

Fokontany	Ménages
URBAIN - Ambohindrajavidy	533
RURAL - Ampitambe	847
RURAL - Befotsy	474

En zone urbaine et en zone rurale, le nombre moyen de personnes par ménage est de 4. Ces personnes ont accès à l'eau potable, principalement par des puits collectifs et les cours d'eau qui se situent à moins de 5 minutes de l'habitation. L'eau est généralement conservée à l'intérieur de l'habitation sans couvercle. Le traitement de l'eau de boisson est une pratique courante (76%), l'eau est surtout bouillie. La cuisine se fait soit dans une des pièces de vie de la maison soit à l'extérieur sous un abri. L'utilisation de toilettes est très faible. 93% des ménages n'ont pas accès à l'électricité. Les habitants d'un ménage partagent en moyenne 2 pièces.

Figure 1: Pyramide des âges de la population recensée



Parmi les 7 620 habitants, 52,0% sont des femmes et 48,0% des hommes. La population de moins de 5 ans représente 12,6% de l'ensemble alors que la population de 5 à 14 ans représente 27,2%. 57,4% de la population a entre 15 et 64 ans et seulement 2,9% ont 65 ans et plus. Cette population est assez jeune avec environ 40% de moins de 15 ans. Les chefs de ménage pour 19,6% sont des femmes et 80,4% des hommes.

Sur les 2 769 descriptions individuelles, les deux religions majoritaires sont la religion catholique (45%) et la religion protestante (36%). 92,1% des hommes et 91,6% des femmes de plus de 15 ans sont allés à l'école primaire ; 41,1% des hommes et 38,7% des femmes de cette même population sont allés à l'école secondaire. 60% des adultes travaillent, principalement, en tant que cultivateurs et commerçant.

## ÉTUDE DES DIARRHÉES INFANTILES

### Cohorte Campylobacter

Les Campylobacters sont une des principales étiologies des diarrhées dans le monde avec près de 400 millions de cas par an. Dans les pays développés, les enfants et les adultes présentent un risque d'infection, alors que dans les pays en voie de développement où les Campylobacters sont endémiques, l'infection est limitée aux enfants, suggérant un niveau d'exposition tôt dans la vie et l'acquisition d'une immunité. Le portage asymptomatique y est également fréquent. Une étude a pour objectifs d'étudier l'épidémiologie des Campylobactérioses et d'identifier les facteurs de risque potentiels de diarrhées/infections/portage à Campylobacter à Moramanga. Les objectifs secondaires sont d'étudier l'association entre excrétion de Campylobacters et survenue de diarrhée, et de mesurer la durée du portage de Campylobacter après un épisode diarrhéique. Deux villages contigus, Befotsy et Ampitambe ont été sélectionnés pour l'étude. L'étude transversale menée en 2008-2009 avait révélé une forte prévalence d'infections à Campylobacter dans ces villages. Un recensement de l'ensemble des foyers des deux villages avec collecte des données sur les facteurs de risque potentiels a été effectué dans un premier temps. Par la suite, tout enfant de moins de 24 mois recensé a été inclus dans l'étude après consentement éclairé du responsable de l'enfant, ces enfants sont suivis jusqu'à l'âge de 3 ans. Il s'agit d'une étude de cohorte dynamique : chaque nouveau-né ou arrivants de moins de 24 mois ont été enrôlés. Un agent de santé communautaire formé est chargé de contacter chacune des familles 2 fois par semaine pour identifier les cas de diarrhées. En cas de diarrhée en cours ou récente, un échantillon de selles est collecté pour recherche de Campylobacter. Tous les 2 mois, pour chaque enfant de la cohorte, une biométrie systématique est réalisée et un prélèvement de selles est collecté pour recherche de Campylobacter. Avant chaque changement saisonnier, une enquête sur le niveau d'hygiène des foyers a été réalisée.

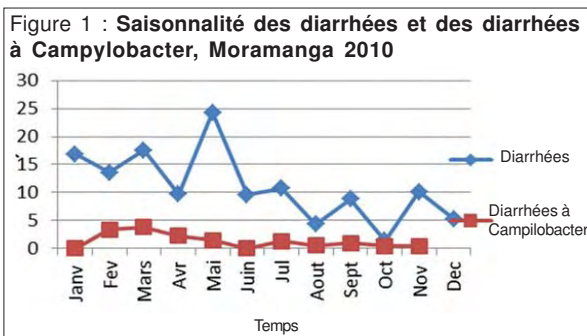
### Résultats préliminaires

Au démarrage de l'étude, 5 hameaux ont été inclus. Jusqu'au 31 décembre 2010, 307 enfants issus de 10 hameaux ont été inclus. Le village de Befotsy et d'Ampitambe comporte respectivement 1 902 et 3 919 habitants, 459 et 889 ménages. Tous les enfants de moins de 24 mois ont participé à l'étude.

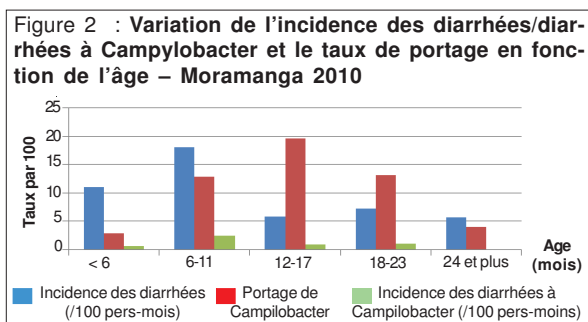
**A l'inclusion**, l'âge moyen de la cohorte est de 9,8 mois (IC 95% 8,9-10,7), l'âge médian est de 8,2 mois. La moyenne d'âge d'inclusion ne diffère pas selon le sexe et selon les hameaux : âge moyen des filles à 9,4 mois (IC95% : 8,2-10,6) et celui des garçons à 10,19 mois (IC 95% : 8,9-11,4). Les 48,5% (42,7%-54,3%) des enfants ont un retard de croissance ; 15,9% (11,7%-20,2%) une insuffisance pondérale et 2,7% (0,7%- 4,7%) une émaciation. La croissance diminue avec l'âge : jusqu'à 6 mois, plus de 2/3 (n= 87; 67,9%) des enfants ont une croissance normale, au fur et à mesure que les enfants grandissent, le retard de croissance apparaît surtout à partir de 12 mois. Les perdus de vue sont de l'ordre de 6,8% dont 3 décès avant l'âge de 12 mois et 18 déménagements en dehors de la zone d'étude.

Les résultats concernant les Campylobacter (diarrhées ou portage) portent sur les données jusqu'en novembre 2010. Il y a eu 184 épisodes diarrhéiques sur les 288 enfants, la durée moyenne d'un épisode est de 4,9 jours (IC 95% :4,4-5,4). Le temps de suivi total est de 58 947 personne-jours et l'incidence moyenne est de 9,5 épisodes diarrhéiques/100 personne-mois. Le temps médian de suivi de la cohorte est de 272 jours (étendue : 3 - 308 jours). Plus de deux enfants sur cinq (43,5%, n= 93) ont eu au moins un épisode diarrhéique. La prévalence longitudinale de la diarrhée est de 1,6% (940j de diarrhée pendant le suivi).

L'incidence des diarrhées est de 10,1 épisode/100 personnes/mois chez les garçons et de 8,7 épisode/100 personnes/mois chez les filles. Celle des diarrhées à Campylobacter est de 1,2 épisode/100 personne-mois (n=20). Par contre, les diarrhées à Campylobacter semblent être plus fréquentes chez les filles (1,2 épisode/100 personne-mois) que chez les garçons (0,9 épisode/100 personne-mois). On observe un pic de diarrhées au mois de mai jusqu'à 25 épisodes/100 personne-mois, pour les diarrhées à Campylobacter, l'incidence la plus élevée se situe au mois de février-mars (figure 1). Les cas de diarrhées varient selon les hameaux, Ampitambe et Ambohimanarivo semblent être les moins touchés par contre la répartition des diarrhées à Campylobacter est plus homogène.



La prévalence globale de portage de *Campylobacter* parmi les participants aux visites bimestrielles est de 34,4%. Le pic de portage se trouve entre 12-17 mois tandis que celui des diarrhées et diarrhées à *Campylobacter* est entre 6-11 mois (figure 2)



Le portage diffère significativement entre les hameaux ( $p=0.03$ ) : on retrouve plus de porteurs asymptomatiques de *Campylobacter* à Ambohinierenana (23,8% vs 10,34%), à Ambohitranivo (16,4% vs 13,8%) et à Befotsy (25,4% vs 22,8%). Les participants ne diffèrent pas des non participants aux visites bimestrielles du point de vue genre ou hameau de résidence.

Concernant la durée de portage après un épisode diarrhéique à *Campylobacter*, le suivi des enfants diarrhéiques à *Campylobacter*, après 8 mois d'étude, a détecté 2 cas probables d'excrétion prolongée.

## Discussion et perspective

En général, les incidences des diarrhées (1,1 épisodes/an) et des diarrhées à *Campylobacter* (0,13 épisodes/an) dans notre site d'étude sont moins élevées par rapport à celles des autres pays en voie de développement. Pour les diarrhées : Bangladesh 4,2 épisodes/an, Nigéria 2,5 épisodes/an, Egypte 5,5 épisodes/an. L'incidence des diarrhées à Moramanga se rapproche plus de celle du Ghana (1,9 épisodes/an) et de Centrafrique (Bangui - 1,6 épisodes/an). L'incidence des diarrhées à *Campylobacter* en Egypte était de 0,6 épisodes/an. Par contre le portage asymptomatique est très élevé par rapport aux autres sites d'études : Calcutta (3,2%) et Algérie (14,9%). Le pic observé entre 6-11 mois pour les diarrhées et plus particulièrement celles à *Campylobacter* a été déjà retrouvé dans d'autres études.

Les résultats présentés sont tous issus d'analyses descriptives, il paraît indispensable de poursuivre le suivi pour étudier la saisonnalité et l'excrétion prolongée et identifier les facteurs de risque (socio-économique, environnementaux).

## INFECTIONS RESPIRATOIRES

### • Grippe saisonnière

#### *Tendances saisonnières de la grippe à Madagascar. Analyse des séries temporelles des données de surveillance sentinelle*

L'objectif de ce travail est de présenter les tendances saisonnières de la grippe à Madagascar en utilisant les données de 2 sites du réseau de surveillance sentinelle des fièvres à Madagascar : Tsiroanomandidy et Toamasina de 2007 à 2009. La tendance générale est à la hausse à Toamasina tandis qu'elle est à la baisse à Tsiroanomandidy. Une corrélation a été constatée entre les données biologiques et cliniques. A Toamasina, la circulation des virus grippaux se fait en début et en fin de saison des pluies alors qu'à Tsiroanomandidy la saisonnalité est plus difficile à déterminer du fait d'une moindre qualité des données. Nous avons pu modéliser les données de Tsiroanomandidy avec une bonne prédiction sur les dernières données 2009 antérieures à la diffusion du virus A(H1N1) pandémique. Le seuil qui a été défini par le modèle a également permis de détecter au tout début la diffusion communautaire du virus dans la ville de Tsiroanomandidy. Les outils de modélisation sont encore à développer à Madagascar, avec le réseau de surveillance sentinelle, il devrait être possible d'intégrer dans les données de surveillance une partie modélisation. Le défaut de données historiques a empêché de valider le modèle mais la bonne concordance entre données cliniques et biologiques est rassurante. Une des perspectives serait d'intégrer dans le système d'analyse de routine en temps réel, des seuils d'alarme évolutifs.

### • Pandémie H1N1

#### *Impact de l'épidémie du virus A(H1N1)v sur la mortalité, Antananarivo, Madagascar, 2009*

Les premiers cas de grippe A(H1N1)v ont été détectés à Antananarivo au mois d'août 2009, et jusqu'en octobre 2009 seuls quelques cas sporadiques ont été notifiés. A partir de cette date, l'épidémie s'est développée dans la capitale et le système de surveillance a permis d'objectiver un pic épidémique en semaine 47.

Le fardeau occasionné par la grippe en termes de morbidité et de mortalité est mal connu dans les pays tropicaux. Le réseau de surveillance sentinelle à Madagascar a permis de suivre l'évolution spatio-temporelle de l'épidémie.



Le présent travail avait pour objectif d'estimer l'impact de l'épidémie liée au virus A(H1N1)v sur la mortalité dans la ville d'Antananarivo.

### Méthode

Il s'agit d'une étude rétrospective sur les années 2007 à 2009, basée sur les registres de décès relevés auprès de 3 centres de la commune urbaine d'Antananarivo où tous les décès de la ville sont déclarés.

La comparaison des données en fonction des années a été faite par régression de Poisson.

### Résultat

Sur une période de 3 années allant de 2007 à 2009, 24 513 cas de décès ont été enregistrés soit 8 534 décès en 2009, 8 043 en 2008 et 7 936 en 2007. L'analyse des données révèle une augmentation de 23% des cas de décès en novembre 2009 par rapport aux autres années ( $P < 0.01$ ). L'analyse par semaine indique que cette augmentation a eu lieu entre les semaines 46 et 48 de l'année 2009.

### Conclusion

L'épidémie de grippe A(H1N1)v 2009 a probablement eu un impact sur la mortalité dans la commune urbaine d'Antananarivo. Ce travail montre l'intérêt d'identifier les différentes sources d'information disponibles, même dans des pays en voie de développement.

## ÉTUDE SUR LA BILHARZIOSE GÉNITALE

### Evaluation de l'acceptabilité de la colposcopie chez les participantes à l'étude sur la bilharziose génitale

(Financement de Bilharziasis Laboratory (DBL), Centre pour la Recherche de Santé et du Développement au Danemark).

L'objectif de l'étude initiale était d'identifier et de valider des méthodes de diagnostic de la bilharziose génitale chez la femme, dans le but de développer des techniques non invasives, à prix abordable, qui soient culturellement acceptables et faciles à appliquer sur le terrain. Pour répondre au deuxième objectif, une évaluation de l'acceptabilité culturelle des différentes techni-

ques a été effectuée.

### Méthodologie

La zone d'étude est Miandrivazo ; c'est une zone endémique de bilharziose urinaire.

L'évaluation de l'acceptabilité culturelle a porté sur celle de la colposcopie. Un questionnaire a été utilisé pour chaque femme ayant participé à l'investigation. Le questionnaire a été rempli par un médecin n'ayant pas participé à l'étude initiale. Les questions ont surtout concerné la perception des femmes avant et après explication verbale et consentement lors de l'investigation.

Parmi les 129 femmes incluses dans l'étude, 119 ont participé à la phase d'évaluation. Leur âge variait de 15 à 52 ans. Parmi elles, 22% n'ont jamais été scolarisée, 60% avaient un niveau d'école primaire et 18% avaient un niveau secondaire. Notre étude a montré que 91% des femmes ont participé car elles considéraient leur santé importante. Elles sont venues pour un examen systématique. Cependant, 8% ont participé sur recommandation d'une tierce personne. Les autres résultats sont décrits dans les tableaux I et II.

L'étude a montré une bonne acceptabilité.

Tableau I : Perception de la colposcopie

Satisfaction sur le déroulement des différents examens		
Bien	114	(95,8%)
Un peu	4	(3,4%)
Pas du tout	1	(0,8%)
Participation à une investigation similaire dans le futur		
	Participation ultérieure	Encourager d'autres participations
Pas de réponse	3 (2,5%)	1 (0,8%)
Non	5 (4,2%)	43 (36,1%)
Oui	111 (93,3%)	75 (63,0%)

Tableau II : Comportement par rapport aux résultats partiels de l'investigation

Communication des résultats à d'autres personnes	
Pas de réponse	6 (5,0%)
Non	52 (43,7%)
Oui	61 (51,3%)
Si, oui	
Partenaire	28 (45,9%)
Mère	16 (26,2%)
Ami	13 (21,3%)
Autres	4 (6,6%)
Si partenaires, impact sur le comportement sexuel des couples	
Non	26 (92,9%)
Oui	2 (7,1%)

## ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

(voir page 86)

---

---

# IMMUNOLOGIE

---

---

*L'unité d'immunologie a été installée en février 2010, dans les anciens locaux du laboratoire de biologie clinique. Le bâtiment Girard devant être entièrement rénové, cette installation est provisoire.*

*Deux objectifs ont été assignés à cette nouvelle unité: i) le développement de projets de recherche en immunologie en partenariat avec les autres laboratoires de l'Institut et ii) la coordination des projets de développement de nouveaux tests de diagnostic rapide (TDR). En 2010, l'unité rassemblait environ 10 personnes dont un adjoint scientifique, un ingénieur, deux techniciens et en moyenne cinq étudiants, travaillant sur i) des projets de recherche de biologie cellulaire (physiopathologie du paludisme grave, immunologie de la peste), et ii) sur le développement (cysticercose, paludisme) ou la production (peste) de TDRs utiles aux programmes nationaux de lutte. Une jeune scientifique malgache a été recrutée pour mettre en place une structure dédiée à l'expression de protéines recombinantes, activité indispensable au développement des TDRs.*

*Parallèlement, l'unité d'Immunologie travaille avec les Ministères de la Santé et de l'Elevage et les services vétérinaires nationaux à la mise en place d'une stratégie nationale de contrôle de la cysticercose. Des études cliniques sont menées dans deux hôpitaux d'Antananarivo et deux hôpitaux périphériques sur l'épilepsie et la cysticercose. Pour valoriser les équipements et le savoir-faire de l'unité et répondre aux besoins du pays, des collaborations ont été développées avec les biologistes cliniciens de l'Institut sur l'immunophénotypage en hématologie.*

*Sur le plan académique, le chef de l'unité d'Immunologie a été impliqué dans la mise en place d'une école doctorale et d'un master à la faculté des sciences d'Antananarivo ainsi que d'un réseau d'écoles doctorales de l'Océan Indien (soutenu par l'AUF). Dans ce cadre, l'unité d'Immunologie a fédéré autour d'elle une équipe d'accueil regroupant 2 praticiens universitaires (PU/HDR), 6 docteurs en sciences (PhD) et 4 docteurs en médecine (MD).*

*Les objectifs organisationnels pour 2011 de l'unité d'Immunologie sont :*

- la mise en place de capacités en biotechnologie pour la production de protéines recombinantes et d'anticorps monoclonaux*
- la structuration de l'unité en plusieurs groupes de travail dédiés aux différents projets en cours.*

---

## DECOMPOSITION DU PROGRAMME

### ACTIVITES DE RECHERCHE

- 1- Physiopathologie du paludisme cérébral**
  - 2- Cysticercose : développement des tests de diagnostic rapide**
  - 3- Drépanocytose et paludisme**
  - 4- Leptospirose**
-

## ACTIVITES DE RECHERCHE

### PHYSIOPATHOLOGIE DU PALUDISME CÉRÉBRAL

#### Justificatif

Le paludisme cérébral est une atteinte neurovasculaire caractérisée par l'adhésion des hématies parasitées et des leucocytes sur les parois des capillaires profonds du cerveau. Au cours du paludisme grave, des études soulignent l'importance de la fragmentation des endothéliums et de la perturbation du flux vasculaire, secondaires à cette adhésion, dans la genèse des signes neurologiques. Le rôle des médiateurs de l'allergie dans ces altérations a également été suggéré. Il a enfin été récemment montré par des chercheurs de l'unité d'Immunologie qu'un transfert d'antigènes parasitaires dans les cellules endothéliales pouvait être observé. Ces antigènes re-exposés à la surface de la cellule endothéliale, pourraient transformer l'endothélium en cible de la réponse immunitaire du sujet, aggravant ainsi les lésions vasculaires par un mécanisme proche de celui observé au cours de la dengue. Tous ces mécanismes pathologiques conduisent à une altération de la barrière hémato-méningée (BHM) associée à des microhémorragies, à un œdème péri-vasculaire et à une ischémie locale.

Si ces atteintes peuvent être évitées par un traitement précoce dirigé contre le parasite, une fois la tempête physiopathologique déclenchée, des traitements adjuvants ciblant les mécanismes d'atteinte de la BHM et/ou les phénomènes d'ischémie-reperfusion seraient d'un grand apport. Ces mécanismes sont étudiés *in vitro* à l'IPM grâce à une lignée humaine de cellules endothéliales microvasculaires de cerveau qui présente de très bonnes caractéristiques fonctionnelles mimant la BHM. La transmission du paludisme à Madagascar, permet de disposer d'hématies parasitées issues de malades du paludisme et de cellules immunitaires d'individus immuns pour étudier *in vitro* les phénomènes pathologiques induit au cours du paludisme grave.

#### Objectifs

##### ▪ Objectif principal

Etudier les altérations de la BHM, induites au cours du paludisme grave, en utilisant un modèle *in vitro* de cellules endothéliales et préciser notamment les atteintes dues à la réponse immunitaire.

##### ▪ Objectifs spécifiques

- étudier les altérations de la BHM induites par le contact avec des hématies parasitées issues de malades atteints de paludisme
- préciser le transfert de molécules entre les isolats

sauvages et les cellules endothéliales

- préciser la réponse immunitaire des individus immuns contre des cellules endothéliales pre-sensibilisées par des antigènes plasmodiaux
- analyser le rôle de la réponse allergique au cours du paludisme

#### Point du projet

##### ▪ Mise en place du modèle cellulaire

Quelques mois après l'installation du laboratoire, la logistique nécessaire à la culture cellulaire a été mise en place. Les cellules endothéliales de cerveau humain ont été transférées depuis Paris (Human brain endothelial cells-D3, Courault *et al*). Des co-cultures de HBEC-D3 et d'astrocytes humains ont été développées pour améliorer la barrière ainsi formée *in vitro*.

##### ▪ Mise en place des méthodes d'analyse de l'altération de la barrière

Les différentes techniques envisagées pour étudier l'altération de la barrière ont été mises en place notamment : **i**) les essais de cytotoxicité (Alamar Blue et CFSE) et de flux calcique (Fluo4-AM), **ii**) les Q-PCR nécessaires à l'analyse de l'expression des gènes, **iii**) les essais d'adhésion (hématies parasitées, THP1, monocytes de patients), **iv**) la mesure du flux transcellulaire (Lucifer yellow), **v**) la détection de l'apoptose en cytométrie de flux (TUNNEL).

##### ▪ Essais préliminaires de co-culture

Un recrutement de volontaires sains prémunis contre le paludisme a été mis en place pour ces études. Ces individus vivent dans une région de méso-endémie palustre (Moramaga, 800 m d'altitude). Le recueil d'isolats parasitaires est assuré par l'unité du paludisme grâce au réseau de surveillance des chimiorésistances. Ces prélèvements ont permis d'optimiser les méthodes biologiques. Les études se poursuivront en 2011.

### CYSTICERCOSE : DÉVELOPPEMENT DE TESTS DE DIAGNOSTIC RAPIDE

#### Justificatif

La neurocysticercose, est l'atteinte infectieuse du cerveau la plus fréquente au monde et l'une des principales causes d'épilepsie. Cette pathologie est causée par la larve de *Taenia solium* ingérée par contamination fécale des aliments ou auto-infestation. Le diagnostic de la neurocysticercose (NCC) est difficile et repose sur des critères à la fois radiologiques et sérologiques. Cependant, dans les pays en développement, l'accès à l'imagerie médicale est limité pour nombre de patients et

les tests sérologiques utilisant des antigènes bruts présentent des inconvénients limitant leur utilisation en dehors des laboratoires spécialisés. Il est nécessaire de développer de nouveaux TDRs utilisables dans les dispensaires. De même, des tests diagnostiques de confirmation de la maladie utilisables dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) seraient utiles. Pour cela, il est nécessaire de sélectionner les meilleures protéines parasitaires utilisables pour le diagnostic. Une stratégie de screening bio-guidé de ces protéines est mise en œuvre en utilisant du sang de malades atteints de cysticercose.

### Objectifs

#### ▪ Objectif principal

Améliorer le diagnostic de la neurocysticercose en zone rurale

#### ▪ Objectifs spécifiques

- mettre en place un réseau de collaboration pour le recueil de prélèvements chez des malades atteints d'épilepsie
- sélectionner les meilleurs antigènes de cysticercose pour la mise au point d'un immuno-diagnostic de la neurocysticercose chez les malades épileptiques,
- cloner les gènes codant ces antigènes et exprimer les protéines recombinantes correspondantes
- mettre au point et évaluer ces tests chez les malades
- développer la même stratégie pour la définition d'un TDR utilisable pour le dépistage de la cysticercose dans les élevages porcins

### Résultats préliminaires

#### ▪ Mise en place d'un réseau de collaboration

Pour évaluer la part de la cysticercose dans les épilepsies un réseau de collaborations impliquant quatre hôpitaux (deux à Antananarivo et deux à Antsirabe) et un district sanitaire (Moramanga) a été mis en place depuis février 2010. Ce réseau permet de réaliser les études pour la mise au point de nouveaux TDR. En retour le diagnostic biologique de la cysticercose était assuré pour ces malades épileptiques.

#### ▪ Identification de nouveaux antigènes de *T. solium* utilisables pour le développement de TDR

Un fractionnement des protéines parasitaires a été réalisé par chromatographie sur colonne. Les fractions ont été utilisées à la fois pour des tests par western-blot et pour des tests cellulaires (test de transformation lymphoblastique).

#### ▪ Identification d'antigènes utilisables pour le contrôle des élevages

Une approche similaire de screening des protéines parasitaires est en cours, utilisant du sang de cochons

contaminés. Des antigènes d'intérêt ont été identifiés et sont en cours d'étude.

#### ▪ Développement de tests utilisables dans le LCR

Une technique de PCR quantitative basée sur la détection du gène COX1 a été mise au point et validée techniquement. Elle est actuellement utilisée en routine pour en évaluer la sensibilité, la spécificité et la valeur prédictive pour le diagnostic de NCC. L'analyse des sous-classes d'immunoglobulines (IgE et IgA) dirigées contre le parasite, présentes dans le LCR est également en cours.

#### ▪ Évaluer l'intérêt de l'analyse de la réponse immunologique cellulaire pour le diagnostic de la neurocysticercose

Une étude de criblage des protéines de cysticercose a été réalisée par un test de transformation lymphoblastique utilisant des PBMC de malades épileptiques suspects ou non de neurocysticercose. Les premières expériences montrent l'intérêt des protéines de liquide de cysticercose pour différencier les individus sains des patients malades. Les extraits protéiques bruts ont été fractionnés par chromatographie d'échange d'ions. Ces fractions protéiques sont en cours d'étude immunologique.

## Autres projets

### DRÉPANOCYTOSE ET PALUDISME

Le développement et la survie intracellulaire du plasmodium est dépendant de l'homéostasie calcique. De nombreux facteurs modifient la concentration intracellulaire en calcium, notamment l'activation de canaux ou sa libération à partir de réserves internes comme le réticulum endoplasmique, les mitochondries, et les acidocalcisomes endoplasmiques. Tout dysfonctionnement de l'homéostasie calcique de l'hématie entraîne l'éryptose. Le taux calcique intra-érythrocytaire chez les drépanocytaires (HbSS) est plus élevé que celui des hématies normales (HbAA) ce qui pourrait concourir à la protection relative de ces patients contre le paludisme. Le métabolisme calcique des parasites dans les hématies AA et SS est comparé pour préciser l'impact de la drépanocytose sur le développement des plasmodies i) en évaluant *in vitro* le taux de prolifération des parasites dans ces deux types d'hématies, ii) en mesurant par PCR quantitative le niveau d'expression des gènes impliqués dans le transport et la régulation du Ca<sup>2+</sup> (PfATP6, PfATP4, PfV1, PfV2, PfCAX et PfNHE), et iii) en évaluant les taux de calcium intracellulaire en cytométrie de flux, par double marquage au Fluo 4 et à l'hydroéthidine.

Les premiers résultats confirment des différences significatives de taux calcique entre ces deux types d'hématies. Ils montrent un retard de prolifération des parasites dans les hématies SS par rapport aux AA. Cependant, les hématies parasitées AA et SS présentent un taux calcique similaire et aucune différence d'expression des transporteurs parasitaires (au stade trophozoite) n'a été relevée. Ceci peut s'expliquer soit par la sélection des hématies par le parasite lors de l'invasion, soit par la modification très précoce du taux en calcium juste après l'invasion. Ces deux hypothèses sont explorées.

#### YERSINIA PESTIS

Madagascar est un des principaux foyers mondiaux de peste. La réapparition des cas d'une année sur l'autre dans les mêmes villages est mal comprise et pourrait être due à une différence de sensibilité des rats à la bactérie ou à des comportements spécifiques des puces. Les rats pourraient ainsi développer rapidement une immunité après piqûre qui permettrait un maintien au long cours sur le rat des puces infectées ou un portage asymptomatique des bactéries. En collaboration avec l'unité des Yersinia, le développement des réponses immunitaires humorales et cellulaires des rats après injection de *Y. pestis* est étudiée.

Ces études montrent l'apparition de taux élevés d'anticorps anti-F1 IgM et IgG chez les rats respectivement une et trois semaines après inoculation. Chez 10% des rats, cette réponse peut se maintenir plus d'un an.

Des différences de sensibilité à la bactérie et de productions d'anticorps anti-F1 ont également été mises en évidence entre les rats sauvages vivants en zone de transmission et ceux vivant en zone de non transmission de *Y. pestis*. Ces différences sont conservées chez les générations F1 de rats obtenues en élevage à partir des rats sauvages, suggérant un support génétique à ces caractéristiques. La réponse immunitaire de ces rats obtenus en laboratoire est explorée pour identifier les bases de ces différences.

#### LEPTOSPIROSE

La leptospirose est fréquente dans l'Océan Indien, mais n'avait pas été décrite à Madagascar chez l'homme avant 2010. Cette faible prévalence est sans doute due à une mauvaise identification des cas. En collaboration avec le laboratoire de Bactériologie expérimentale, les techniques immuno-diagnostic utilisées au CNR des leptospires à Paris ont été mises en place à l'IPM pour participer à des études épidémiologiques à venir.

---

---

# BACTERIOLOGIE EXPERIMENTALE

---

---

*Le “Laboratoire de Bactériologie Expérimentale” a été créé en mai 2010, faisant suite au laboratoire de “Bactériologie Moléculaire” qui avait été créé en septembre 2009. Il occupe des locaux à l’étage du bâtiment Thiroux qu’il partage avec l’Unité des Mycobactéries. Une pièce a été dédiée à la Bactériologie Expérimentale, les autres locaux du laboratoire étant communs avec l’Unité des Mycobactéries (stock, biologie moléculaire).*

*Du matériel neuf de bactériologie et de biologie moléculaire a été acquis et certains matériels d’occasion ont été acheminés depuis les Services Techniques, Pôle Equipements, de l’Institut Pasteur à Paris. Une étuve neuve était présente initialement dans le laboratoire.*

*L’activité du laboratoire a été induite par la présence de deux thèses de science recrutées par le Dr A Talarmin, directeur de l’IPM, par son intégration dans des projets de recherche en cours d’élaboration ou d’exécution et par des propositions de projets du laboratoire lui-même.*

---

## ACTIVITES DE RECHERCHE

### TRAVAUX DE THÈSES DE SCIENCES

A la création de l'unité, une étudiante était en deuxième année de thèse en co-tutelle avec la Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie (Paris VI) et le service de bactériologie de l'hôpital Tenon (Prof G. Arlet). Le thème de cette thèse portait sur la caractérisation des Entérobactéries productrices de Beta-lactamase à Spectre Étendu (BLSE) et de leur environnement génétique, chez 49 entérobactéries isolées de patients hospitalisés et ambulatoires.

La seconde étudiante terminait son master sur la caractérisation des mécanismes de résistance à l'imipénème de 53 souches d'*Acinetobacter baumannii*. Un projet interne a été élaboré pour les besoins de sa thèse, son intitulé était "Étude comparée des environnements génétiques de bactéries gram négatif". Cette étude sera complémentaire de celle effectuée lors de la première thèse, car il étudiera les souches, hors entérobactéries, qui n'ont pas été incluses dans ce premier travail.

Ces deux étudiantes ont bénéficié chacune d'une bourse Girard octroyée par l'IPM.

### Participation à des projets

#### PROJET MADIHO, PHASE PRÉLIMINAIRE

Il s'agit de la détection des gènes de virulence de 700 *Escherichia coli* isolés à partir de selles de patients diarrhéiques inclus pendant la phase préliminaire du projet Diarrhée, financé par la Fondation Total (MADIHO). Dans ce but, une PCR multiplex (n=13) a été mise en œuvre dans le laboratoire à partir de sa publication princeps (*D. Müller and al, Identification of Unconventional Intestinal Pathogenic Escherichia coli Isolates Expressing Intermediate Virulence Factor Profiles by Using a Novel Single-Step Multiplex PCR, Appl Env Microb, May 2007*). Fin décembre 2010 ces analyses étaient en cours.

Le chef de l'unité de bactériologie expérimentale coordonne la partie diagnostics entre les différents laboratoires impliqués dans le projet, à Madagascar et en République Centrafricaine. Ceci a consisté à identifier les techniques diagnostiques à mettre en œuvre en virologie, parasitologie et bactériologie sur des selles, pour identifier le plus largement possible les pathogènes entériques. Ce travail a été réalisé en relation avec des experts dans chacune des disciplines (P Pothier, JF Pays, F Mégraud, FX Weill).

#### PROJET SURVEILLANCE DES INFECTIONS RESPIRATOIRES AIGÛES SÉVÈRES À MADAGASCAR (SDRA)

La coordination de ce projet est assurée par l'unité d'Epidémiologie, les sites d'étude étant CenHoSoa (Centre Hospitalier de Soavinanadriana) à Antananarivo et l'hôpital de Moramanga. La recherche de *Burkholderia pseudomallei*, agent de la mélioirose a été rajoutée à la liste des étiologies bactériennes étudiées. Un avenant au projet a été écrit pour sa présentation au Comité d'Éthique auprès du Ministère de la Santé de Madagascar. Les expectorations sont obtenues du Centre de Biologie Clinique de l'IPM après que celui-ci ait analysé les échantillons.

#### PROJET CHILDREN ANTIBIOTIC RESISTANCE IN LOW-INCOME COUNTRIES (ChARLI)

Il s'agit d'un projet financé par la Fondation Albert de Monaco, coordonné par l'unité de pharmacologie et maladies infectieuses (Prof D. Guillemot) de l'Institut Pasteur à Paris et impliquant l'unité de Bactériologie Expérimentale et l'unité d'Epidémiologie de l'IPM. Son objectif est de mesurer l'incidence des infections résistantes aux antibiotiques de l'enfant de moins de 2 ans. Une phase pilote, se tenant à Madagascar (Antananarivo et Moramanga) et servant à identifier les difficultés liées à la mise en place d'une telle étude, devrait commencer pendant le premier trimestre 2012 et durer deux ans. Après quoi une étude multicentrique est prévue sur une durée d'au moins trois années et concernerait des pays africains et asiatiques. Le chef de l'unité de Bactériologie Expérimentale est le coordinateur de ce projet à Madagascar.

### Autres projets d'étude initiés par l'unité

#### ÉTUDE DES RÉSISTANCES BACTÉRIENNES AUX ANTIBIOTIQUES EN MILIEU COMMUNAUTAIRE

Il s'agit d'un projet présenté comme projet interne à l'IPM. Il sera exécuté en collaboration avec l'unité d'Epidémiologie et le Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement de l'IPM ainsi qu'avec l'unité d'Ecologie Microbienne de l'Université Claude-Bernard à Lyon. Il comporte des composantes humaines, animales et environnementales, notamment les sols. Il consistera à suivre des foyers familiaux et leur environnement pendant une année. Son objectif est de mettre en évidence

l'apparition de bactéries résistantes et leurs fluctuations dans le temps pour savoir dans quelle proportion elles existent, et essayer de comprendre quels sont les événements qui régissent leurs disséminations.

#### **MÉLIOIDOSE HUMAINE**

Ce projet sera présenté à l'appel d'offre ACIP de 2011 et intégrera trois Instituts du Réseau, Dakar, Ban-

gui et Madagascar. Son objectif est de mettre en évidence des cas cliniques de cette maladie qui a été très peu inventoriée jusqu'à présent en Afrique et dans l'Océan Indien. Sa mise en œuvre à Madagascar, se ferait avec les régions de Mahajanga et Moramanga. Des collaborations avec la Menzies School of Health Research (Darwin, Australie) et avec l'Imperial College (Londres) seraient instituées à cette occasion.



---

---

# **ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE**

---

---

---

---

# ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

---

---

## **Considérations générales**

*Les différentes unités de l' Institut Pasteur de Madagascar interviennent dans des actions de Santé Publique, pour certaines directement en tant que centres de référence OMS ou nationaux, pour d' autres par leur participation active à la surveillance épidémiologique. D' une façon générale, les activités de recherche et de santé publique sont étroitement liées.*

*Par ailleurs, des missions d' expertise ou des interventions peuvent être effectuées à la demande du Ministère de la Santé Publique. Ces capacités s' étendent aussi au niveau de la zone Océan Indien, puisque l' Institut Pasteur de Madagascar est régulièrement sollicité par les autorités sanitaires des Comores et des Seychelles.*

*L' Institut Pasteur de Madagascar abrite plusieurs centres ou laboratoires de référence :*



- Centre Collaborateur OMS pour la Peste
- Laboratoire National de Référence OMS pour la Grippe
- Laboratoire National de Référence OMS pour la Poliomyélite
- Laboratoire National de Référence OMS pour la Rougeole
  
- Laboratoire National de Référence des Mycobactéries
- Laboratoire Central de la Bilharziose
- Laboratoire Central de la Peste
- Laboratoire National de Référence pour la Rage
- Centre de Référence National pour les Arbovirus et Virus des Fièvres Hémorragiques
- Laboratoire de Référence National d' Analyse des Eaux dans les Industries Agro-alimentaires et de Contrôle des Denrées Animales ou d' Origine Animale.
- Centre National de Référence pour *Vibrio cholerae*, *Salmonella* et *Shigella*

# Activités des Centres de Référence



## 1- Centre Collaborateur OMS pour la Peste

L'Unité peste entame la deuxième année de son 3<sup>ème</sup> mandat de Centre Collaborateur OMS pour la lutte et la recherche sur la peste. A ce titre, elle assure des services intéressants les programmes de l'OMS d'intérêt régional et mondial.

### • Programme "External Quality Assessment"

#### EQA des laboratoires en Afrique

IPM : *C Raharimanana, N Randriananja, L Ralaftarisoa, V Andrianaivoarimanana, M Rajerison*

OMS Genève : *E Bertherat*

OMS Lyon : *S Cognat*

NICD Afrique du Sud : *J Rossouw*

Un programme d'évaluation de l'assurance qualité a été mis en place par l'OMS avec le National Institute of Communicable Disease (NICD) en Afrique du Sud depuis 2002, à l'attention des laboratoires en Afrique qui assurent le diagnostic de la peste. Ce programme voit la participation de 17 laboratoires des 15 pays africains. Dans le cadre de ce programme, l'Unité Peste a été nommée laboratoire de référence en Microbiologie en juillet 2010. De ce fait, les résultats de notre analyse biologique et ceux du Centre for Disease Control Fort-Collins ont été utilisés comme référence. L'année 2010, six échantillons nous ont été référés.

### • Appui à d'autres pays

#### - Soutien et assistance technique sur la confirmation biologique de la peste et le contrôle des réservoirs et vecteurs dans le Province Ascope et Trujillo-Département de la Libertad -Pérou (09 au 25 août 2010)

IPM-CCOMS : *M Rajerison, S Rahelinirina*

Instituto Nacional de Salud-Ministerio de Salud del Peru  
INS : *M Cespedes, M Palomino, P Pachas, D Gonzalez, P Garcia, C Sanchez*

LRR Lambayeque : *W Caprio*

GERESA et LRR La Libertad : *M Agreda et P Asmat*

Organizacion Panamericana de la Salud OPS : *Tamayo, M Valcarcel* ; OMS Genève : *E Bertherat*

Financement : *OPS, OMS, INS, IPM*

### Introduction

La Libertad est un foyer historique qui représente 30% des cas de peste au Pérou. Le premier cas de peste au Pérou a été observé en 1902 et le dernier dans cette région en 1996. Après 13 ans de silence, la peste est réapparue en 2009. La notification s'est étendue en 2010 dans plusieurs districts. L'épidémie de 2010 a commencé

en avril et comptait au total 28 cas suspects. Dans Ascope Province, du département de la Libertad, les conditions sanitaires sont médiocres comme dans beaucoup de zones endémiques de peste. Les habitants pratiquent l'élevage de cochon d'Inde (*Cavia porcellus*) à l'intérieur des habitations. C'est une région productrice de canne à sucre et exportatrice de sucre. Les champs de canne à sucre qui se trouvent à proximité des maisons occupent plusieurs hectares. Selon la littérature, *Rattus norvegicus*, le rat dominant dans cette région, est amateur de canne à sucre. L'utilisation de la méthode de brûlage avant la coupe entraîne la fuite des animaux vivant dans ces champs vers les environs et par conséquent une augmentation du risque de peste grâce aux pressions de la part de l'homme (brûlis). Ces activités commerciales et la présence de port entraînent d'intenses mouvements de population dans ce département.

Suite aux épidémies qui ont persisté dans les localités périurbaines du département la Libertad et dans le cadre de la collaboration entre l'Instituto Nacional de Salud de Lima-Peru et l'Institut Pasteur de Madagascar, l'OMS a décidé d'appuyer le Pérou par une mission d'assistance biologique et entomo-mammalogique de l'Institut Pasteur. Les objectifs étaient de confirmer biologiquement les cas humains suspects de peste, d'élaborer des recommandations dans le contrôle des réservoirs et vecteurs, et de mettre en place la collaboration entre les deux pays.

### Assistance à la confirmation biologique

Différentes techniques ont été utilisées pour confirmer la circulation de *Y. pestis* ou la présence d'une cicatrice sérologique. La majorité des prélèvements collectés sont du sérum. La technique sérologique de détection d'anticorps anti-F1 par ELISA a été utilisée en vue de confirmer les cas humains. Par ailleurs, les techniques bactériologique et moléculaire qui étaient utilisées au Pérou ont été révisées lors de cette mission. La technique ELISA IgG anti-F1 a été implantée, optimisée et standardisée sur place. Des échantillons collectés sur les patients suspects de peste ont été testés :

- sur les 28 cas humains suspects de peste : 6 patients présentaient une séroconversion (négatifs devenant positifs en anticorps anti-F1) et sont définis comme cas confirmés de peste,

- pour les autres espèces (rat, souris et chien), le ratio suivant a été adopté pour l'interprétation des résultats : Ratio = delta DO plaque-peste et plaque-bruit

de fond (échantillon)/ (moyenne DO des contrôles négatifs + 3 écarts type) ; positif si supérieur à 1,

- pour les rats : 3/76 sérums et 2/29 sérobuvars étaient positifs en anticorps IgG anti-F1 (prévalence en IgG anti-F1 4,7%), la spécificité des anticorps de rats a été vérifiée par inhibition. Pour les chiens, parmi les 43 testés, 9 étaient porteurs d'anticorps IgG anti-F1. Pour l'ELISA chez la souris, les conditions de travail et le nombre très limité d'échantillons ne nous ont pas permis d'aller jusqu'au bout de l'optimisation.

#### Assistance au contrôle des réservoirs et vecteurs

Une série de piégeages a été réalisée dans 4 localités : Chicama, Sumanique, San Jose del Alto et Salamanca. La méthode standard, 3 nuits consécutives de capture, a été menée à l'intérieur et à l'extérieur des habitations. Les pièges utilisés sont du type Sherman et Tomahawk. L'appât, poisson séché avec oignon a été utilisé au début puis relayé avec de la boulette d'avoine ajouté d'essence de vanille. La collecte des puces se fait par épucage immédiat des micromammifères capturés (brossage du pelage dans une bassine de couleur claire). L'identification des puces a été réalisée à Chicama sous microscope dans une boîte de pétri.

L'effort de piégeage a été de 1004 nuits-pièges. Le rendement de capture a été de 10,1%.

Les espèces de rongeurs capturés sont constitués de *Rattus rattus*, *Rattus norvegicus*, *Mus musculus*, *Sigmodon peruanus*. Les espèces des puces récoltées appartiennent à *Xenopsylla cheopis*, *Ctenocephalides felis* et *Echidnophaga gallinacea* (tableau I).

Tableau I : Site de piégeage, diversité et effectif de réservoirs et vecteurs

Localités	Habitat	Nuit piège	Total capture	Rat	Nb Puces	Puces
Chicama	Maison et ferme	596	53	Rn	801	Xc
				et/ou	6	Cf
			Rr	28	Eg	
			16	Mm	0	
	Champs de maïs	60	1	Sp	10	Xc
Sumanique	Maison	124	9	Rn	17	Xc
					1	Eg
San Jose del Alto	Maison	120	8	Rn	62	Xc
				Rr	1	Xc
				Mm	0	
				ND	0	
Salamanca de Cao	Maison	104	7	Rn	42	Xc
				Rr	30	Xc
				Mm	0	

Rn : *Rattus norvegicus*  
Rr : *Rattus rattus*  
Mm : *Mus musculus*  
Sg : *Sigmodon peruanus*  
ND : Non déterminé

Xc : *Xenopsylla cheopis*  
Cf : *Ctenocephalides felis*  
EG : *Echidnophaga gallinacea*

Certaines puces récoltées sur les rats ont été testées pour leur sensibilité à différents insecticides. Six types de papiers imprégnés d'insecticides ont été utilisés : Carbaryl 5,0% (OMS), Bendiocarbe 0,1% (OMS),

Pirimiphos-méthyl 0,5% (INS), Deltaméthrine 0,05 (OMS), Cyfluthrine 0,15% (OMS), Alpha-cyperméthrine 0,1% (OMS).

Tableau II : Tests insecticides

Famille insecticide	Insecticides	Nb puces exposées	Nb morts (%)	Conclusion
Carbamates	Carbaryl 5%	31	21 (67,7)	Résistante
	Bendiocarbe 0,1%	39	10 (25,6)	Résistante
Organophosphorés	Pyrimiphos-méthyl 0,5%	50	16 (32)	Résistante
Pyréthrinoides	Deltaméthrine 0,05%	40	37 (92,5)	Tolérante
	Cyfluthrine 0,15%	40	40 (100)	Sensible

Au total 220 puces récoltées à Chicama ont été testées. C'est un test préliminaire réalisé dans le cadre de la formation et effectué en conditions de terrain (T° 20 à 22°, HR 48%). Les puces ont été testées soit à jeun de 24h, soit directement après avoir été collectées. Les résultats préliminaires ont montré une résistance des puces de Chicama au carbaryl. Le carbaryl 5% étant un insecticide utilisé lors de l'épidémie à Chicama.

#### Discussion et conclusion

Cette mission a permis de confirmer 6 cas de peste humaine et de mettre en évidence une sérologie de peste positive chez les animaux testés (rat et chien). La bactérie avait circulé au sein de la population de micromammifères. L'abondance de puces constaté à Chicama est due à la résistance acquise des puces à l'insecticide utilisé et pourrait être le résultat de l'application abusive des insecticides lors de cette épidémie. A cette occasion, une formation sur le diagnostic pré-somptif et d'autres tests de confirmation ont été initiés. L'importance du test de confirmation par la bactériologie a été soulignée. La définition des cas de peste de l'OMS a été enseignée et appliquée.

La mission s'est bien déroulée malgré des contraintes organisationnelle et linguistique.



## 2- Laboratoire National OMS pour la Poliomyélite

R Razafindratsimandresy, S Rabemanantsoa, NS Andriamamonjy

Le laboratoire pour la poliomyélite de l'Institut Pasteur de Madagascar est un Centre de Référence Inter-Pays qui assure le diagnostic d'infection par les poliovirus des cas de paralysies flasques aiguës (PFA) détectées sur l'île Maurice, aux Seychelles, dans l'Union des Comores et à Madagascar. Suite à l'audit externe commandité par l'OMS en octobre 2008, notre laboratoire

a été accrédité pour la technique de différenciation Intra-Typique (DIT) des poliovirus. En conséquence, les isolats obtenus sur cellules L20B (cellules murines exprimant le récepteur spécifique du poliovirus CD155) n'ont plus besoin d'être envoyés au Laboratoire Régional de Référence (National Institute for Communicable Diseases) à Johannesburg pour distinguer l'origine des souches (vaccinal, sauvage ou entérovirus non poliomyélitique (ENPV)).

Les tentatives d'isolement de poliovirus dans les échantillons cliniques ont été effectuées selon l'algorithme réduisant le délai de rendu de résultat de 28 à 14 jours. Cet algorithme préconise de n'identifier que les virus isolés sur cellules L20B mais après avoir augmenté le titre viral par un passage sur cellules RD (lignées continues de rhabdomyosarcome humain sensibles à tous les entérovirus). Pour définir le sérotype et l'origine vaccinale, dérivée du vaccin (VDPV) ou sauvage du poliovirus, notre laboratoire utilise 2 méthodes de DIT préconisée par l'OMS (RT-PCR et ELISA). Pendant l'année 2010, nous avons pu mettre en place une 3<sup>ème</sup> méthode utilisant la technique de RT-PCR en temps réel et nous avons été accrédité par l'OMS pour cette technique depuis le 3 janvier 2011. Cette technique permet de différencier les isolats de type VDPV. Au final, le délai de résultat depuis la tentative d'isolement jusqu'à la DIT du poliovirus a été ramené de 42 à 21 jours.

Tous les tests d'évaluation (isolement viral, DIT par ELISA, RT-PCR conventionnelle ou RT-PCR en temps réel) passés au cours de l'année 2010 par notre laboratoire ont obtenu un score de 100%.

En 2010, le laboratoire a analysé 437 échantillons de selles issus de 220 cas de PFA dont 210 cas de Madagascar, 5 cas de l'Union des Comores et 5 cas de l'île Maurice. Les Seychelles n'ont pas notifié de cas pendant l'année 2010. Les résultats des isolements viraux suivants leur origine géographique sont présentés dans le tableau I.

Tableau I : Nombre des cas de PFA notifiés par pays et les souches isolées pendant la surveillance en 2010

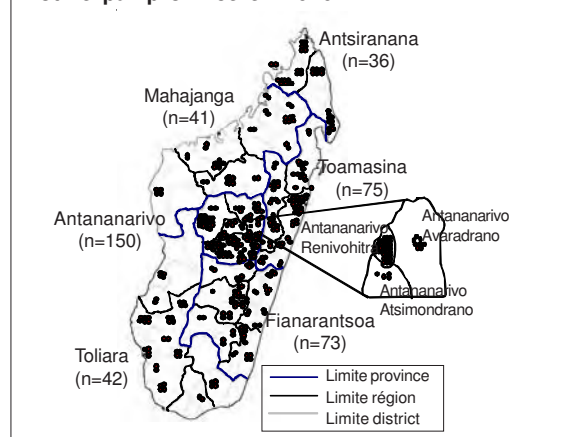
Pays	Nb cas	Nb selles	Nb selles positifs (cas)	Identification des isolats
Union des Comores	05	10	4 (2)	2 Sabin 1; 2 Sabin 2; 3 Sabin 3
Madagascar	210	417	19 (11)	19 ENPV
Ile Maurice	5	10	0 (0)	0
Les Seychelles	0	0	0 (0)	0

ENPV : Entérovirus non poliomyélitique

Sur le plan des performance du laboratoire, on note que dans l'ensemble, les critères ont été respectés, mis à part la faible proportion d'échantillons de selles (60%)

qui arrivent dans le laboratoire dans les 3 jours requis traduisant les difficultés d'acheminement des prélèvements vers le laboratoire. De même les critères de respect de la chaîne de froid et absence de fuite ne cessent de diminuer depuis 2007. Parmi les cas de PFA, le taux d'isolement d'ENPV reste le même (6%) par rapport à l'année 2009. On note que les cas détectés ne sont pas représentatifs de tout le territoire puisque 82 districts (74%) sur les 111 ont signalé au moins un cas (figure 1). Il y a encore 29 districts "silencieux" car ils n'ont pas notifié des cas.

Figure 1 : Carte de distribution des 210 cas de PFA détectés à Madagascar et le nombre de selles (n) notifié par province en 2010



### 3- Laboratoire National de Référence OMS pour la Rougeole

R Razafindratsimandresy, AH Randriamanantena, Razainirina J

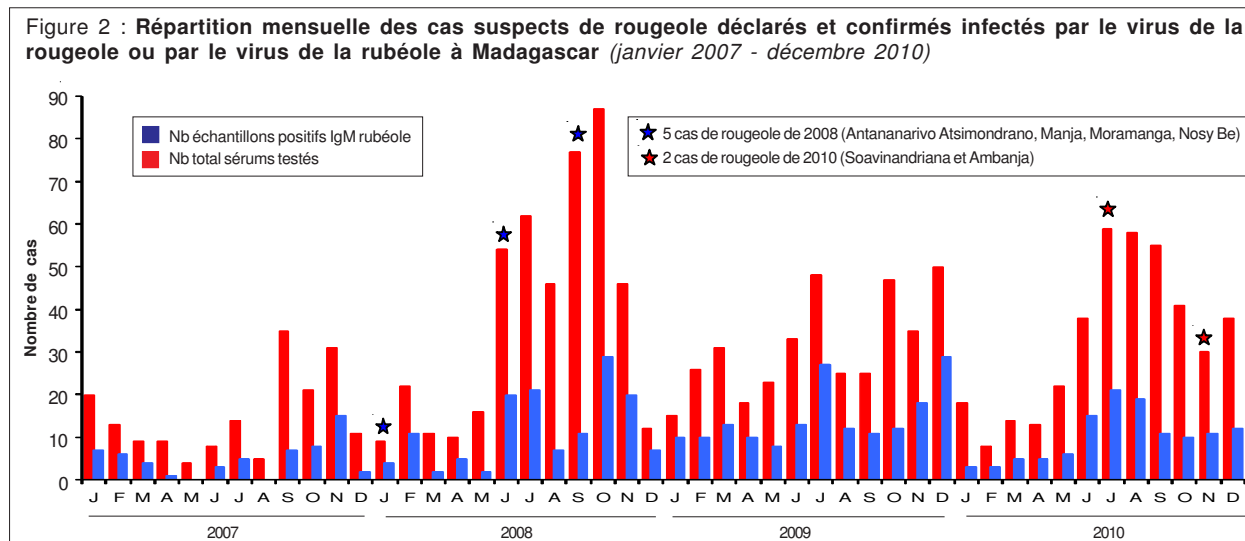
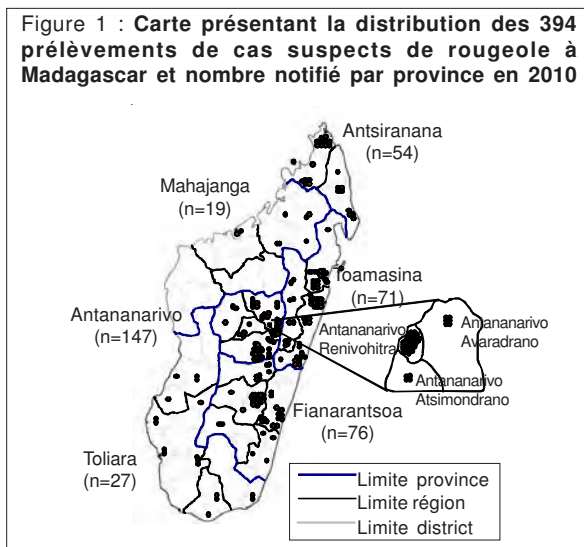
La surveillance nationale des cas suspects de rougeole à Madagascar a démarré après les campagnes de vaccination de masse organisées en septembre et octobre 2004. Dans le cadre de cette surveillance, le laboratoire est chargé du diagnostic sérologique de la rougeole chez les patients suspects prélevés par les centres de santé.

En 2010, le laboratoire a reçu 394 échantillons de sérum. Les conditions de réception des prélèvements étaient très bonnes puisque 94,9% des prélèvements ont été reçus à une température comprise entre 0 et 8°C. Malheureusement, les objectifs de performances en matière de réception des échantillons dans les 3 jours qui suivent le prélèvement ainsi que le taux d'adéquation des échantillons (prélèvements de sérums entre le 4<sup>ème</sup> et 28<sup>ème</sup> jours post-éruption) ont encore été en dessous des objectifs attendus. Sur le plan épidémiologique, l'âge médian des patients suspects était de 19 ans (0 à 85 ans) un sex-ratio (M:F) de 0,9. Deux cent vingt trois des 394 patients (56,6%) avaient des antécédents de vaccination

contre la rougeole. Cent cinquante deux prélèvements ont été collectés dans les 3 jours qui suivait l'éruption, 240 dans les 4 à 28 jours et 2 au-delà de 28 jours. La figure 1 montre la répartition spatiale des 394 prélèvements de cas suspects de rougeole en 2010 ainsi que le nombre de cas par province. Cette répartition des cas n'est pas homogène car il y a encore des districts "silencieux" (comme ceux des provinces de Toliara, Mahajanga et Fianarantsoa). Sur les 111 districts, 71 ont rapporté au moins un cas, soit 71,1%. Il faut souligner que l'absence de cas rapporté ne signifie pas l'absence de circulation du virus de la rougeole.

L'analyse au laboratoire par technique ELISA des cas suspects de rougeole ont pu montrer que 69% des cas suspects étaient négatifs pour la recherche d'IgM dirigées contre le virus de la Rougeole ou de la Rubéole. En revanche, 31% des cas suspects étaient associés à une infection récente par le virus de la rubéole indiquant la circulation active de ce virus chez les jeunes enfants. La distribution mensuelle des cas suspects et des cas probables de rougeole montre une saisonnalité avec un pic annuel se situant entre les mois d'octobre et de novembre correspondant à l'intersaison et le début de la saison des pluies (figure 2).

Conformément aux recommandations de l'OMS, 4 envois d'échantillons ont été organisés le 20 avril, le 27 juillet, le 26 octobre 2010 et le 16 janvier 2011 vers le Laboratoire Régional de Référence en Afrique du Sud à Johannesburg (National Institute for Communicable Diseases - Serology Laboratory). Les résultats étaient concordants dans 97,9% des cas pour la recherche d'IgM anti-rougeole.



#### 4- Centre National de Référence OMS pour la Grippe

JM Héraud, A Orelle, N Razanajatovo, GM Razafitrimo, S Jaovanona

Le laboratoire de la grippe de l'Institut Pasteur de Madagascar est reconnu par l'OMS depuis 1978, comme Centre National de Référence pour la Grippe (CNRG) après nomination par le Ministère de la Santé malagasy. Les missions du CNRG sont l'isolement et la caractérisation des souches grippales circulant à

Madagascar et l'envoi des souches au Centre Collaborateur OMS à Londres dans le cadre du "Global Influenza Program" mis en place par l'OMS. La caractérisation antigénique et moléculaire des souches circulant récemment permet ainsi à l'OMS de faire des propositions quant à la composition des vaccins pour les saisons grippales à venir dans les hémisphères Nord et Sud. Dans le cadre de la surveillance de l'émergence d'une grippe pandémique due au virus A/H5N1 et récemment causée par le virus A/H1N1/2009, le CNRG a été reconnu comme laboratoire régional africain de

référence pour le diagnostic de ces deux virus. Il participe à ce titre au programme de contrôle qualité externe mis en place par l'OMS (EQAP).

Depuis 2007, le CNRG a pu mettre en place grâce à un partenariat actif entre l'IPM (Unités de Virologie et d'Epidémiologie), la Direction des Urgences et de la Lutte contre les Maladies Négligées (DULMN) et la Direction de la Veille Sanitaire et de la Surveillance Epidémiologique (DVSSE) un réseau de surveillance de la grippe composé à ce jour de 31 sites sentinelles couvrant 27 districts sanitaires dont 4 se trouvant au niveau de la Commune Urbaine d'Antananarivo (CUA). La population desservie par ce réseau est estimée à 1 000 000 d'habitants, soit environ 5% de la population malagasy totale. L'ensemble des sites effectue une surveillance clinique permettant de définir et mesurer des indicateurs épidémiques. Neuf (9) sites (4 dans la CUA et 5 en province) effectuent en sus, une surveillance biologique consistant à prélever environ 5 patients répondant aux critères de définition d'une infection grippale.

Désormais, fort de capacités en diagnostic moléculaire, et grâce à l'appui du CDC (Grant # 1U5/IP000327-01), nous avons pu adapter notre procédure de traitement des échantillons reçus, afin que toutes les Gripes soient testées en biologie moléculaire (à l'exception du type C ayant un très faible impact en terme de santé publique). Tous les prélèvements sont aussi inoculés sur cellules pour isolement. Dans un avenir proche, compte tenu du volume d'activité croissant, nous envisageons comme le font d'autres Centres Nationaux de Référence de ne tester sur cellules que les échantillons positifs en PCR temps-réel, ainsi qu'une petite proportion des négatifs (~ 5 à 10%).

## • Résultats de la surveillance de la Grippe en 2010

### – Analyse qualitative et quantitative des prélèvements reçus

En 2010, le CNRG a reçu 995 prélèvements de patients présentant un syndrome pseudo-grippal. Parmi eux, 988 ont pu être traités et seuls 7 prélèvements ne l'ont pas été car ils étaient non-conformes. Sur ces 7 prélèvements non-conformes, 6 échantillons envoyés par un CSB-II et ne sont arrivés au laboratoire qu'au bout de deux mois. Dans l'ensemble, le système fonctionne correctement. Pour l'année 2010, le nombre (988) de prélèvements qui ont été analysés était en augmentation de +73% par rapport aux 570 prélèvements étudiés en 2008. L'année 2009 n'est pas comparable du fait de l'épisode exceptionnel de Grippe pandémique.

L'essentiel des prélèvements reçus au CNRG (93,1%) proviennent du réseau sentinelle de surveillance des fièvres et pour la plupart des sites de surveillance biologique (76,4%) (tableau I). Malgré une hétérogénéité en termes d'échantillonnage des différents sites biologiques, on note une très nette progression du nombre de prélèvements réalisés par certains sites en comparaison des années précédentes (2009 étant exclus) notamment pour les sites de Mahajanga et d'Antsiranana. L'effet grippe pandémique y est certainement pour beaucoup. Autre fait marquant, en termes de représentativité, concerne la part des prélèvements en provenance des provinces qui dépasse le nombre de prélèvements venant de la communauté urbaine d'Antananarivo (CUA). Jusqu'à présent, ils ne représentaient que 20% de l'ensemble des prélèvements

Tableau I : Résultats des sous-types de virus grippaux détectés ou isolés selon leur origine géographique au cours de l'année 2010

Site biologique / Provenance	Nb Prélèvements Analysés	Part Analysés / Total	B	Co-infection	A. Non sous-typé	H1N1 (PDM)	H1N1s	H3N2s	Total Positif	NEGATIF	Positivité échantillons analysés
<b>Antananarivo</b>											
OSTIE Behoririka (BHK)	152	15,3%	6	8	7	4	0	21	46	106	30,3%
Andohatapenaka (CDA)	58	5,9%	0	0	3	2	0	17	22	36	37,9%
Manjakaray (MJR)	78	7,9%	0	0	3	2	0	30	35	43	44,9%
Tsaralalàna (TSL)	71	7,2%	0	0	3	3	0	4	10	61	14,1%
<b>Total CUA</b>	<b>359</b>	<b>36,3%</b>	<b>6</b>	<b>8</b>	<b>16</b>	<b>11</b>	<b>0</b>	<b>72</b>	<b>113</b>	<b>246</b>	<b>31,5%</b>
<b>Communes</b>											
Mahajanga (MHJ)	123	12,4%	6	1	6	3	0	26	42	81	34,1%
Antsirabe (ATB)	85	8,6%	3	1	4	7	0	5	20	65	23,5%
Taolagnaro (TGR)	49	5,0%	2	1	2	2	1	2	10	39	20,4%
Toamasina (TOA)	82	8,3%	10	1	4	0	0	15	30	52	36,6%
Antsiranana (DIE)	60	6,1%	12	1	2	10	0	10	35	25	58,3%
<b>Total provinces</b>	<b>399</b>	<b>40,4%</b>	<b>33</b>	<b>5</b>	<b>18</b>	<b>22</b>	<b>1</b>	<b>58</b>	<b>137</b>	<b>262</b>	<b>34,3%</b>
<b>Madagascar</b>											
Total Sites Biologiques	758	76,7%	39	13	34	33	1	130	250	508	33,0%
Total Sites non Biologiques	162	16,4%	4	2	12	42	1	7	68	94	42,0%
Total Sites Sentinelles	920	93,1%	43	15	46	75	2	137	318	602	34,6%
Total Hors Sites Sentinelles	68	6,9%	3	2	9	7	1	5	27	41	39,7%
<b>Total 2010</b>	<b>988</b>	<b>100,0%</b>	<b>50</b>	<b>19</b>	<b>67</b>	<b>124</b>	<b>4</b>	<b>149</b>	<b>413</b>	<b>737</b>	<b>41,8%</b>

reçus. En moyenne, le nombre de prélèvements effectués par semaine est d'environ 1 pour Taolagnaro à presque 3 pour l'OSTIE Behoririka.

Globalement le taux de positivité des échantillons analysés atteint 41,8% pour l'année 2010. Pour la surveillance sentinelle, ce taux est de 34,6%, ce qui est un bon résultat. Le faible taux de positivité observé au niveau du site de Tsaralalàna (14,1%) s'explique par le fait qu'il s'agit d'un site pédiatrique et que les enfants sont sujets à de nombreuses infections respiratoires non liées à la grippe (Razanajatovo NH *et al. PLoS One.* 2011 Mar 3; 6 (3) : e1 7579).

L'analyse des cas confirmés d'infection Grippale en 2010 montre un ratio Homme/Femme de 0,82 alors qu'il est de 0,94 pour les résultats négatifs.

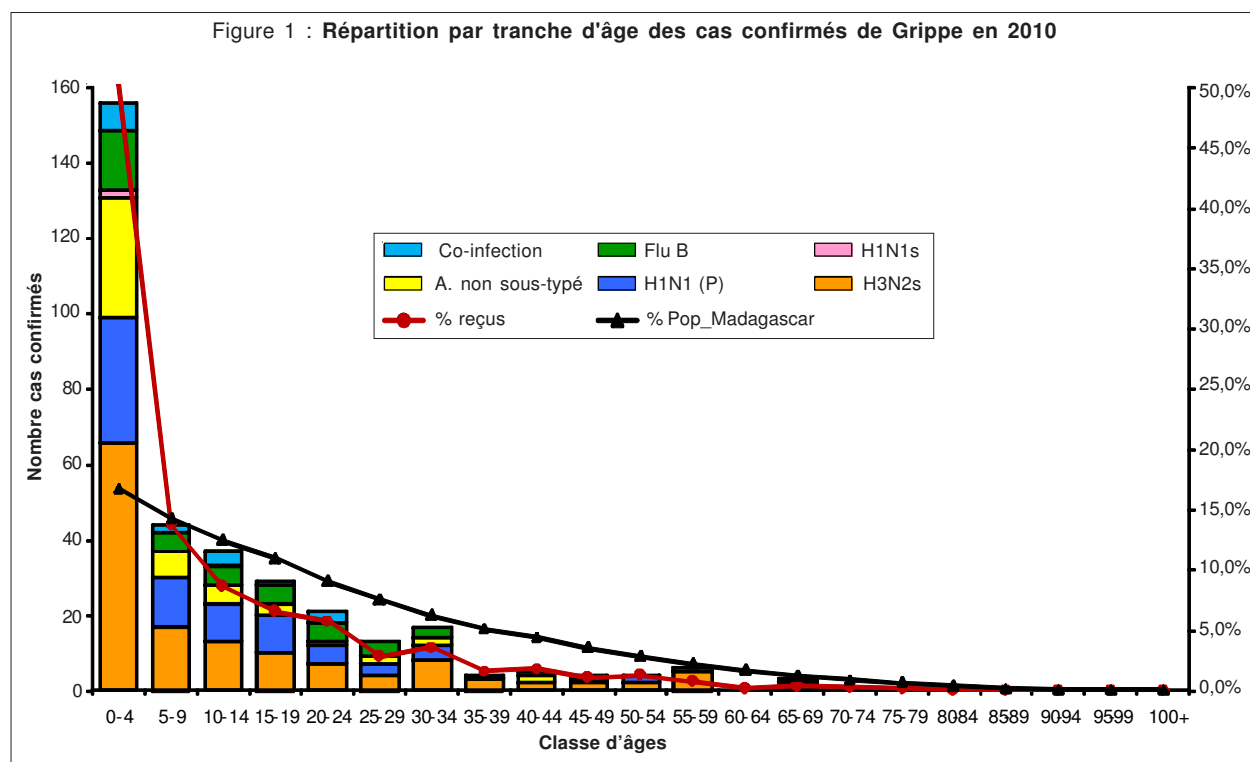
La répartition des cas de syndromes grippaux en fonction de l'âge montre toujours une nette prédominance chez les enfants en bas âge. Bien que la classe d'âge [0-4] soit la plus représentée dans la population Malgache (16,8% ; Source : U.S. Census Bureau, International Data Base), la part de prélèvements reçus provenant de cette classe au niveau du CNR Grippe ne reflète pas la répartition en âge de la population Malgasy (figure 1). Ce sont ainsi plus de 50% des prélèvements reçus (et 45,2% des cas confirmés de Grippe pour l'année 2010) qui proviennent d'enfants de moins de 5 ans. Ce phénomène de biais dans l'échantillonnage est observé dans de nombreux autres pays, et pourrait être expliqué par une fréquence plus élevée de consultation des enfants fébriles par rapport aux adultes.

Aucune différence significative entre le nombre de prélèvements reçus par classe d'âge et le pourcentage de positivité pour une infection grippale n'a été observée.

#### – Analyse de l'activité Grippale à Madagascar

Le début de l'année 2010 a été caractérisé par la fin du pic épidémique de Grippe Pandémique A(H1N1)pdm09. Par la suite ce virus n'a été détecté que très sporadiquement après la fin de son pic en semaine 08-2010. Durant le premier semestre, quelques cas de grippe saisonnière ont pu être confirmés [Grippe B + A(H3N2)], mais à partir de la semaine 32 nous avons observé une activité prolongée du virus A(H3N2) puis une co-circulation avec le virus B (lignée Victoria) notamment en fin d'année.

Lors des précédentes années (2009 exclus), nous observons habituellement deux pics épidémiques : un premier entre les semaines 01 et 12, et un second entre les semaines 38 à 46. L'année 2010 est particulière car il ne se dégage pas de variation saisonnière marquée. Cependant, la diversité de la provenance des prélèvements (5 régions du pays) et la forte participation des sites de Province (>50%) expliquent peut-être ces résultats puisque les régions bioclimatiques peuvent avoir des dynamiques de circulation virale asynchrones. En ce qui concerne Antananarivo et sa communauté urbaine, nous retrouvons une augmentation de l'activité grippale entre les semaines 33 et 47.





• **Caractérisation antigénique et moléculaire des souches isolées à Madagascar**

Au cours de l'année 2010, nous avons envoyé 48 surnageants positifs en culture cellulaire au NIMR de Londres, correspondant à des isolats Malagasy, ainsi que 83 prélèvements originaux SWAB (certains toujours en cours d'analyse).

- Les isolats de grippe A (H1N1) Pandémique ont montré de légères substitutions par rapport au vaccin et aux souches de références (I321V). Il est cependant intéressant de voir que nos souches, d'un point de vue génétique, se trouvent proches de deux sous-groupes semblant émerger (Hong-Kong, défini par les substitutions S128P, V199A et I 295V) et Hémisphère sud (N125D). Il sera intéressant de vérifier dans le futur si Madagascar sera également concerné par ces clusters particuliers.

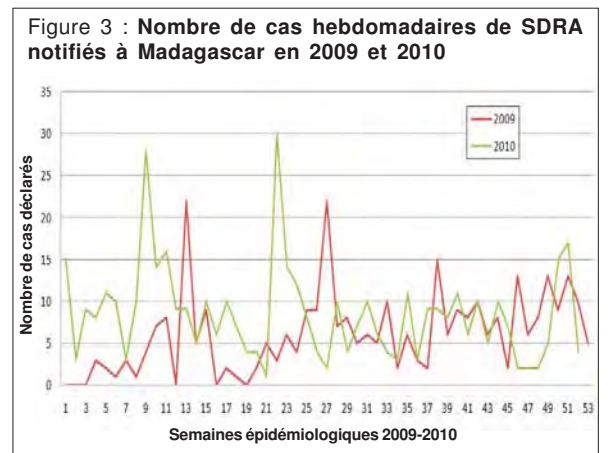
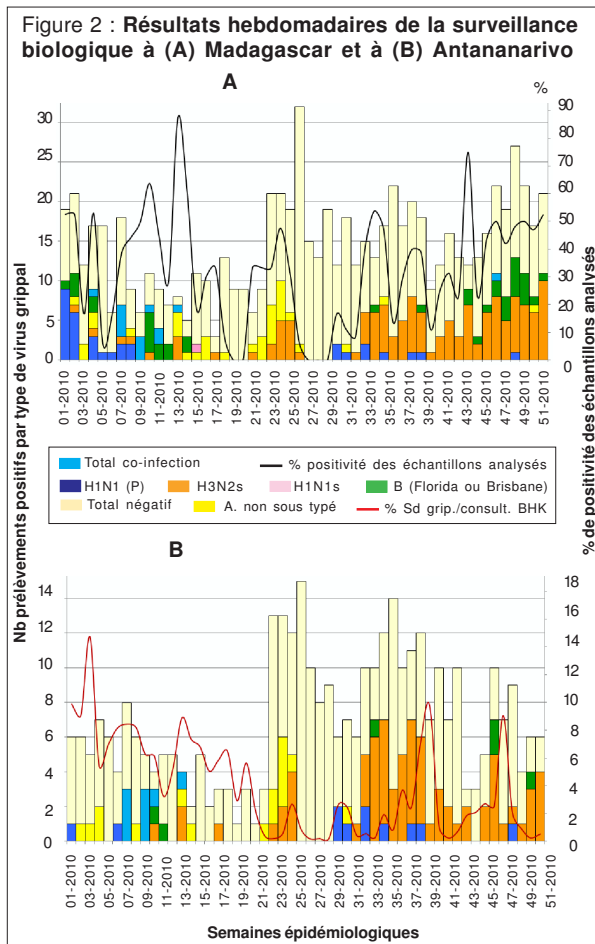
- Les isolats de Grippe B/Victoria semblent avoir très peu évolué en 2010 par rapport à 2009 (Clade B/Brisbane/60, à la fois au niveau du gène HA et du gène NA), et restent proches des souches vaccinales et de référence, en dehors des substitutions courantes A202V et L58P.

- Du fait de mutations au niveau de l'hémagglutinine des virus A(H3N2), peu d'isolats ont pu être obtenus au CNR. Ils sont toujours en cours d'analyse au centre collaborateur de Londres.

• **Résultats de la surveillance des Syndromes de Détresse Respiratoire (SDRA)**

Suite à la mise en place du réseau de surveillance des cas de syndromes de détresse respiratoire aiguë (SDRA) au niveau de 18 CHU, CHRR et CHD2, les sites ont déclaré 442 cas de SDRA (contre 479 en 2009). Aucun cas suspect d'infection par le virus A/H5N1 n'a été notifié. Les variations des nombres de déclarations de l'ensemble des sites par semaine (figure 3) sont marquées par deux pics de SDRA en semaine 9 (mars) et en semaine 22-23 (juin). Cette dernière augmentation pourrait correspondre à la recrudescence des cas de Grippe A(H3N2) observés au cours de la surveillance de la Grippe (semaine 22-23); aux virus de références B/Hong Kong/45/05 et B/Victoria/304/06. L'analyse des séquences HA des souches isolées au cours de 2007 indique qu'il n'y a pas eu de glissement (drift) antigénique significatif entre les récents isolats et les virus précédemment isolés (B/Malaysia/2506/04 ou encore B/Madagascar/2828/06 et Madagascar/2828/06).

- Les 5 virus B de la lignée Yamagata (Shanghai) sont très proches sur le plan antigénique des virus B/Florida/7/06 et B/Egypt/144/05. Les séquences HA des derniers isolats sont identiques et proche de la souche B/Egypt/144/05.



• **Contrôles Qualité Externes (EQAP)**

Au cours de l'année 2010, le Centre National de Référence pour la Grippe de Madagascar a été soumis à deux contrôles de qualité externes "EQAP" (= External Quality Assessment Programme), organisés par l'OMS. Chacun des contrôles (EQAP 7 et EQAP 8), consistant en 10 échantillons lyophilisés d'ARN de différents types et sous-types grippaux (Grippe B, Grippe A/H1N1 Saisonnière, A/H3N2 Saisonnière, A/H1N1 Pandémique, A/H5N1), ou de témoins négatifs. Pour ces deux contrôles qualités, nous avons obtenu le score maximal de 100% de conformité, portant à 6 le nombre de contrôles qualité successifs sans erreur.

## • Conclusion

L'année 2010 aura vu le développement de son réseau de surveillance de la grippe, qui compte désormais 31 sites sentinelles repartis sur l'ensemble du territoire Malagasy ainsi que 18 centres hospitaliers.

En 2011, outre le maintien de ses activités de surveillance, le CNRG poursuivra ses efforts quant à l'étude biologique des étiologies des SDRAs grâce à la mise en place de deux sites hospitaliers (CENHOSOA et CHD de Moramanga) et le recrutement de deux médecins d'étude clinique chargés de coordonner le projet au niveau des sites.

Le CNRG financera et participera à deux formations. La première concernant la mise en place des équipes de réponse rapide dans toutes les Régions. La seconde en collaboration avec l'Unité d'Epidémiologie sur un atelier de travail sur l'investigation d'épidémie.

Enfin l'un des grands projets du CNRG pour 2011-2012 sera la mise en place de site de diagnostic de la Grippe au sein de deux CHU de Madagascar (Toamasina et Mahajanga).

## 5- Laboratoire National de Référence des Mycobactéries (CNRM)

### 1. Activités de diagnostic et de supervision

IPM : H Ramarokoto, P Ravololonandriana, V Rasolofoa Razanamparany

IHS : A Rakotoarisaonina, H Ramarokoto

*Le Centre National de Référence des Mycobactéries (CNRM) comprend le Service de Laboratoire des Mycobactéries du Ministère de la Santé (SLM) à l'Institut d'Hygiène Sociale (IHS) et le Laboratoire des Mycobactéries de l'IPM.*

### • Laboratoire des Mycobactéries de l'IHS (LNR)

Le réseau de laboratoires du Programme National de Lutte contre la Tuberculose est constitué par le CNRM, 17 laboratoires régionaux de référence (LRR) et 224 laboratoires périphériques. Le nombre de malades à tuberculose pulmonaire à microscopie positive (TPM+) suspects examinés dans tous les laboratoires du réseau a été de 15 618, avec un taux de dépistage de 25,3% de patients positifs. Ce taux reste stable depuis plusieurs années, entre 20 et 30%, témoignant de la fiabilité des résultats.

Les équipes du SLM et des LRR assurent la supervision et le contrôle de qualité du diagnostic microscopique de la tuberculose, la formation et le recyclage des personnels. Le contrôle de qualité externe des laboratoires du réseau TB est effectué par la relecture en aveugle d'un échantillon de lames préparées et examinées en périphérie. En 2010, 61 laboratoires (soit

25,3%) ont été contrôlés et 48 techniciens de laboratoire ont été formés.

Du 15 au 23 octobre 2010, une évaluation de l'assurance qualité du réseau de laboratoire a été effectuée par le Dr Dissou Affolabi, consultant externe de l'Union Internationale contre la Tuberculose.

### • Laboratoire des Mycobactéries de l'IPM

Le Laboratoire des Mycobactéries de l'IPM réalise les analyses pour le diagnostic de la tuberculose pour le Centre de Biologie Clinique de l'IPM (CBC), le PNLT (CNRM et enquêtes) et les activités de recherche.

#### *Microscopie*

En 2010, le laboratoire a reçu 1 486 échantillons dont 796 (53,6%) pour les patients du CBC, 690 (46,4%) pour le PNLT et/ou les recherches. Tous les échantillons ont été analysés par la microscopie à fluorescence après coloration à l'auramine.

#### *Culture et identification*

La culture est demandée pour les cas de tuberculose de diagnostic difficile (tuberculose pulmonaire à microscopie négative, tuberculose de l'enfant, tuberculose extrapulmonaire), les enquêtes et les projets de recherche. En 2010, sur 1 078 cultures faites (à partir de 920 prélèvements pulmonaires et 158 extrapulmonaires) sur milieu de Löwenstein-Jensen (31% pour le CBC, 46,2% pour le PNLT et 22,8% pour les recherches), 197 (18,3%) étaient positives, 759 négatives et 122 en cours.

Les souches de mycobactéries sont identifiées par les tests biochimiques standards (réaction de la catalase à 22° et 68°C, réduction des nitrates, recherche de l'uréase). Sur 183 tests d'identification, toutes les souches ont été identifiées comme *M. tuberculosis*.

#### *Antibiogrammes*

Les antibiogrammes sont réalisés essentiellement pour les cas déjà traités (échec, rechute ou reprise de traitement), pour les enquêtes et la recherche. Ils ont un intérêt dans la surveillance épidémiologique de la résistance aux antituberculeux et de manière plus spécifique de la multirésistance à au moins l'isoniazide et la rifampicine (MDR). La sensibilité aux principaux antituberculeux de 1<sup>ère</sup> ligne (streptomycine 400µg/ml, isoniazide 0,200µg/ml, rifampicine 400µg/ml, éthambutol 200µg/ml) est testée selon la méthode indirecte des proportions sur milieu de Löwenstein-Jensen (LJ). Sur 137 souches testées en 2010, 108 souches étaient sensibles, 7 résistantes à au moins un antituberculeux (6%) et 22 en attente de résultats. Parmi les 7 souches résistantes, 3 cas multirésistants à l'isoniazide et la rifampicine (MDR) ont été observés (2,6%) dont 1 échec, 1 rechute, et 1 cas non précisé.

Les tests de sensibilité aux antituberculeux de 2<sup>ème</sup> ligne (ofloxacine, amikacine, kanamycine, capréomycine) sont effectués depuis 2009. Les souches isolées de 14 patients tuberculeux dont 10 cas de rechute et 4 cas d'échec ont toutes été testées sensibles.

### • Contrôle de qualité de la bacilloscopie

Pour assurer la fiabilité des résultats de la microscopie rendus par les deux laboratoires des mycobactéries du CNRM, un contrôle de qualité (CQ) inter-laboratoire basé sur la relecture de frottis, est effectué tous les trimestres.

Le laboratoire des mycobactéries de l'IPM effectue le contrôle de qualité de la microscopie du Laboratoire El Maarouf (Programme National de Lutte contre la Tuberculose des Comores).

Le laboratoire des mycobactéries a effectué le 16<sup>ème</sup> round de CQ externe des antibiogrammes organisé par l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers (F. Portaels, A. van Deun).

## 2. Mise en place des tests moléculaires pour le diagnostic rapide des MDR

IPM : H Ramarokoto, P Ravololonandriana, V Rasolofy PNLT

Fondation Mérieux : J Hoffmann, JL Berland

Le test moléculaire GenoType® MTBDRplus (HAIN, Lifescience) pour la détection rapide des mutations responsables de la résistance de *M. tuberculosis* à la rifampicine et à l'isoniazide a été mis en place à l'IPM grâce à une collaboration avec la Fondation Mérieux et le PNLT. Depuis 2009, ce test est réalisé à partir des prélèvements de sujets en échec de traitement ou en rechute TB pour évaluer ses performances en prenant comme test de référence la méthode indirecte des proportions sur milieu de LJ. Les résultats obtenus à ce jour sur 86 prélèvements testés montrent une sensibilité de 83,3% pour la résistance à la rifampicine et 63,3% pour la résistance à l'isoniazide, pour des spécificités respectives de 91,8% et 94%.

## 6- Laboratoire Central de la Bilharziose (LCB)

P Ravoniarimbinina, AS Rafalimanantsoa, J Rahamefy, A Rahetilahy, VE Ravaoalimalala

Le rôle du Laboratoire Central Bilharziose est de participer à la supervision du programme de lutte contre la bilharziose et d'assurer la surveillance épidémiologique de cette maladie.

Depuis l'année 2008, Madagascar fait partie des pays qui ont été choisis pour l'application de l'approche intégrée des maladies tropicales négligées (MTN) par l'Organisation Mondiale de la Santé et ses principaux

partenaires. L'objectif est de réduire la morbidité due à ces MTN et de faire reculer la pauvreté par la distribution de masse de médicaments (DMM) pour les enfants d'âge scolaire de 5 à 15 ans au moins pendant trois années successives. Le Laboratoire Central Bilharziose est chargé d'en assurer le suivi et l'évaluation par des enquêtes épidémiologiques.

## • Surveillance épidémiologique à Sanganoro

### Introduction

En 1997, les enquêtes menées sur la bilharziose par l'équipe de la DULMT et l'IPM dans la zone rizicole d'Ifanja, district de Miaryarivo, avaient révélé que le Fokontany de Sanganoro était non hyperendémique (prévalence inférieure à 50%) à la bilharziose à *Schistosoma mansoni*. L'objectif de la nouvelle enquête était de connaître la situation épidémiologique actuelle.

### Méthodologie

Cette enquête a été menée en milieu scolaire selon la méthode du Lot Quality Assurance Sampling (LQAS) plan [16,6].

Les enfants âgés de 6 à 15 ans ont été groupés par village. 16 enfants par groupe ont été tirés au sort.

Un prélèvement de selles par enfant a été récolté et préparé selon la technique merthiolate-iode-formol concentration.

### Résultats

Une école primaire publique, Ambohimiaria et 2 écoles primaires privées à Sanganoro ont été visitées.

Au total, 128 enfants, tirés au sort ont participé à cette enquête. La bilharziose a été dépistée dans 2 écoles mais les villages restent non hyperendémiques, le nombre de cas positifs pour chaque groupe varie de 0 à 5. Les autres helminthes retrouvées sont : *Ascaris lumbricoïdes*, *Hymenolepis nana*, *Trichuris trichura*, *Taenia spp*, *Ankylostoma*.

Tableau I : Résultats par école

Ecole	Villages	Positif en <i>S. mansoni</i> sur 16 examinés	Autres helminthes
Ecole FJKM Sanganoro	Sanganoro	0	<i>A. lumbricoïdes</i> , <i>H. nana</i>
	En dehors de Sanganoro	0	<i>A. lumbricoïdes</i> , <i>H. nana</i>
Ecole Rhema Sanganoro	Sanganoro	5	<i>A. lumbricoïdes</i> , <i>T. trichura</i> , <i>H. Nana</i> , <i>Taenia</i>
	En dehors de Sanganoro	4	<i>T. trichura</i>
EPP Ambohimiaria	Ambohimiaria	0	<i>A. lumbricoïdes</i>
	Miarintsoa	5	<i>A. lumbricoïdes</i> , <i>H. nana</i>
Miadapaonina - Androvakely Ankorondrano, Ampanovana, Ambondrona, Ambatotokana et Andranomangatsiaka.	Miadapaonina - Androvakely	0	<i>H. nana</i>
	Ankorondrano, Ampanovana, Ambondrona,	4	<i>A. lumbricoïdes</i> et
	Ambatotokana et Andranomangatsiaka.		<i>Ankylostoma</i> , <i>H. nana</i>

### Conclusion

Les villages de Sanganoro restent non hyperendémiques à la bilharziose à *S. mansoni*. Notons que la plupart des élèves de ces écoles avaient bénéficié du traitement par praziquantel lors de la DMM d'octobre 2008.

## • Enquêtes épidémiologiques pour le suivi et l'évaluation de la DMM

L'objectif de ces enquêtes est d'évaluer la situation de la bilharziose et des géohelminthes avant la DMM prévue pour l'année 2011, pour servir de référence aux futurs suivis périodiques.

Elles ont été menées dans deux districts, l'un endémique à la schistosomose à *Schistosoma haematobium* à Antsohihy et l'autre endémique aux deux espèces de schistosomoses, le *S. haematobium* et le *S. mansoni* à Maevatanàna.

### – Antsohihy

Les enquêtes parasitologiques ont été effectuées dans 7 écoles primaires publiques : Ambalahonko, Ambalarano Nord, Andrafiia, Anjiajia, Antafiandakana, Antanamarina et Antombodriha.

827 prélèvements d'urines et 830 prélèvements de selles ont été effectués.

L'examen des urines a permis de relever 119 (14,4%) cas d'hématurie macroscopique.

569 (68,8%) élèves étaient porteurs d'œufs de *S. haematobium*. L'intensité d'infection moyenne chez les cas positifs était de 230 œufs pour 10 ml d'urines.

De fortes prévalences de la schistosomose uro-génitale, supérieures à 50%, ont été trouvées dans 6 écoles à Ambalarano, Andrafiia, Anjiajia, Antafiandakana, Antanamarina et Antombodriha. L'école d'Ambalahonko était mésoendémique (prévalence à 23,8 %).

A l'examen des selles, 2 cas de schistosomose intestinale à *S. mansoni* ont été dépistés, l'un à Ambalarano Nord et l'autre à Antombodriha. La moyenne de la charge parasitaire chez ces cas positifs était de 432 œufs par gramme de selles (OPG).

Les autres helminthes retrouvés ont été l'*Ascaris lumbricoides* (4 cas), le *Trichuris trichura* (2 cas) et le *Taenia spp.* (1 cas).

Tableau II : Présentation des résultats par école dans le district d'Antsohihy

Ecole	Recensés	Examinés (%)	Urines (%)				Selles (%)			
			Hématurie	Sh	Sm	As	Tr	An	Ta	
Ambalahonko	73	67 (91,8)	1 (1,5)	16 (23,8)	0	0	0	0	1 (1,5)	
Ambalarano Nord	129	128 (99,2)	47 (36,7)	120 (93,8)	1 (0,8)	0	0	0	0	
Andrafiia	157	157 (100)	14 (8,9)	92 (58,6)	0 (0,6)	1 (1,3)	2	0	0	
Anjiajia	192	185 (96,4)	44 (23,8)	164 (88,6)	0 (0,5)	0	0	0	0	
Antafiandakana	136	129 (94,9)	1 (0,8)	74 (57,4)	0	0	0	0	0	
Antanamarina	126	103 (81,7)	8 (7,8)	61 (59,2)	0 (3,8)	4	0	0	0	
Antombodriha	67	61 (91,0)	4 (6,6)	42 (68,9)	1 (1,6)	0	0	0	0	
<b>Total</b>	<b>880</b>	<b>830 (94,3)</b>	<b>119 (14,4)</b>	<b>569 (68,8)</b>	<b>2 (0,2)</b>	<b>6 (0,7)</b>	<b>2 (0,2)</b>	<b>0</b>	<b>1 (0,1)</b>	

Sh : *Schistosoma haematobium* ; Sm : *Schistosoma mansoni* ; As : *Ascaris* ; Ta : *Taenia*  
Tr : *Trichocéphale* ; An : *Ankylostome*

### – Maevatanàna

Les enquêtes parasitologiques ont été menées dans 7 écoles primaires publiques : Ambalabongo, Ambodimanary, Ampisavankaratra, Antafia, Beratsimanana, Marokoloy et Maromalandy.

784 prélèvements d'urines et 788 prélèvements de selles ont été effectués.

L'examen macroscopique des urines a montré 182 (23,1%) cas d'hématurie.

A l'examen parasitologique, 539 (68,4%) élèves sont porteurs d'œufs de *S. haematobium*.

L'examen des selles a montré que 137 (17,4%) enfants étaient porteurs d'œufs de *S. mansoni*, 12 (1,5%) étaient infestés par *Ascaris lumbricoides*, 13 (1,6%) par *Trichuris trichura* et 9 (1,1%) par *Taenia spp.*

De fortes prévalences des deux formes de schistosomose, supérieures à 50%, ont été trouvées dans 6 écoles : Ambalabongo, Ambodimanary, Beratsimanana et Maromalandy pour la schistosomose uro-génitale et Ampisavankaratra et Marokoloy pour la schistosomose intestinale. L'école d'Antafia était hypoendémique (prévalence à 7%) à la schistosomose uro-génitale.

Tableau III : Présentation des résultats par école dans le district d'Antsohihy

Ecole	Recensés	Examinés (%)	Urines (%)				Selles (%)			
			Hématurie	Sh	Sm	As	Tr	An	Ta	
Ambalabongo	142	123 (86,6)	46 (37,4)	123 (100)	1 (0,8)	2 (1,6)	5 (4,1)	0	0	
Ambodimanary	166	162 (97,6)	38 (23,5)	156 (96,3)	0	7 (4,3)	2 (1,2)	0	0	
Ampisavankaratra	60	59 (98,3)	0	7 (11,9)	54 (91,5)	0	0	0	1 (1,7)	
Antafia	79	71 (89,9)	0	5 (7)	0	0	0	0	5 (7)	
Beratsimanana	203	191 (94,1)	38 (19,9)	154 (80,6)	1 (0,5)	0 (0,5)	1 (1,1)	0	2 (1)	
Marokoloy	97	95 (97,9)	8 (8,4)	11 (11,6)	81 (85,3)	3 (3,2)	1 (1,1)	0	1 (1,1)	
Maromalandy	90	87 (96,7)	52 (59,8)	83 (95,4)	0	0	4 (4,6)	0	0	
<b>Total</b>	<b>837</b>	<b>788 (94,1)</b>	<b>182 (23,1)</b>	<b>539 (68,4)</b>	<b>137 (17,4)</b>	<b>12 (1,5)</b>	<b>13 (1,6)</b>	<b>0</b>	<b>9 (1,1)</b>	

L'intensité de l'infestation des deux formes de schistosomoses était élevée. En effet, la moyenne de la charge parasitaire chez les cas positifs en schistosomose uro-génitale était de 312 œufs pour 10 ml d'urines et de 1216 OPG chez les cas positifs en schistosomose intestinale.

### • Enquêtes dans le cadre de projet d'étude

Le LCB a effectué des enquêtes épidémiologiques dans le cadre du projet d'étude intitulé "Female Genital Schistosomiasis (FGS) Case Definition", en collaboration avec le Danish Bilharziasis Laboratory, Centre pour la Recherche de Santé et de Développement au Danemark.

L'objectif de cette enquête parasitologique a été de recruter les femmes qui ont participé à cette étude.

### **Méthodologie**

La population d'étude était les femmes âgées de 15 à 35 ans et quelques femmes de plus de 45 ans de 5 villages dans le district de Miandrivazo.

Un prélèvement d'urines pendant trois jours consécutifs a été effectué pendant cette phase de recrutement. Les femmes infestées par *S. haematobium* et ayant une intensité d'infection supérieure à 50 œufs pour 10 ml ou inférieure à 20 œufs pour 10 ml et les femmes négatives pour le village témoin sont recrutées pour l'étude FGS proprement dite.

Un prélèvement de selles a été effectué chez les femmes recrutées pour l'étude. 2 lames par prélèvement ont été montées.

Un traitement des cas positifs a été réalisé.

### **Résultats**

Au total 323 femmes ont été contactées et 297 (92%) ont consenti à participer à l'étude.

Parmi ces 297 femmes consentantes, 232 (78,1%) ont donné 3 échantillons d'urines, 43 ont donné 2 échantillons d'urines et 21 ont donné 1 seul échantillon d'urines.

152 (51,2%) cas positifs en *S. haematobium* ont été dépistés. La moyenne de l'intensité d'infection chez ces cas positifs était de 329 œufs pour 10 ml d'urines.

128 prélèvements de selles ont été réalisés, 1es helminthes intestinales retrouvées ont été :

- 1 (0,8%) *S. mansoni* avec une charge parasitaire moyenne de 888 OPG
- 6 (4,7%) *Ascaris lumbricoïdes* avec une charge parasitaire moyenne de 38 OPG
- 56 (43,8%) *Ankylostoma* avec une charge parasitaire moyenne de 396 OPG.

### **• Enquêtes malacologiques**

Les prospections malacologiques ont été effectuées à Ampefy, district de Soavinandriana, et dans le district de Miandrivazo pour la recherche des hôtes intermédiaires de *S. mansoni* et de *S. haematobium*.

#### **– Ampefy**

Il s'agit d'une enquête pour l'étude de la population des hôtes intermédiaires pendant la période pluvieuse.

145 *Biomphalaria pfeifferi*, hôtes intermédiaires de *S. mansoni* ont été récoltés ; 2 (5,4%) sur 37 *B. pfeifferi* testés ont été positifs au test d'émission de furcocercaires.

Les autres espèces de mollusques rencontrées étaient *Pila cecilei*, *Lymnaea natalensis hovarum*, *Anisus crassilabrum*, *Physa acuta*, *Melanoides tuberculata*.

La population a beaucoup diminué par rapport à l'enquête menée en début de la saison pluvieuse au mois de décembre 2009.

#### **– Miandrivazo**

3 *Bulinus obtusispira*, hôtes intermédiaires de *S. haematobium* ont été récoltés; le test d'émission des furcocercaires a été négatif.

Les autres espèces rencontrées étaient : *Pila cecilei*, *Lymnaea natalensis hovarum*, *Anisus crassilabrum*, *Melanoides tuberculata*, *Cleopatra madagascariensis*.

### **Conclusion**

Des villages hyperendémiques en *S. mansoni* ou en *S. haematobium* ont été confirmés. Dans le cadre de la DMM, les enfants d'âge scolaire seront traités pour la schistosomose et les géohelminthes.

Les prévalences des géohelminthes étaient assez faibles, ceci pourrait être dû à l'application du déparasitage bi-annuel en milieu scolaire. Cependant, les mesures de prévention primaire sont à renforcer pour réduire la transmission de ces parasites.

## **7- Laboratoire Central de la Peste (LCP)**

### **• Surveillance de la peste humaine à Madagascar : données de laboratoire et situation épidémiologique**

IPM : *M Ratsitorahina*, *C Raharimanana*, *V Andrianaivoarimanana*, *V Richard*, *M Rajerison*,  
Laboratoire Central de la Peste : *M Ratsimba*, *N Randriananja*,  
*L Ralafiarisoa*, *S Andrianalimanana*  
Ministère de la Santé Publique : *DULMN/ SLMEN/Div Peste - SDSP foyers de peste*

Introduite dans les Hautes Terres en 1921, la peste reste encore un problème de santé publique à Madagascar. La surveillance épidémiologique de cette maladie transmissible, comprise dans le Programme National, est assurée par le Laboratoire Central de la Peste (LCP) sous la supervision technique de l'Unité Peste de l'IPM. Les Formations Sanitaires envoient directement les déclarations et les prélèvements à ce laboratoire. Le diagnostic de confirmation y est réalisé par les méthodes de bactériologie (culture et inoculation à la souris) et le Test de Diagnostic Rapide de Détection d'Antigène F1 (TDRA). Depuis la restriction budgétaire du LCP en 2006, ce dernier est utilisé comme test de screening vu sa bonne performance. En effet, seuls les prélèvements positifs en TDRA sont mis en culture. Pour tous cas suspects déclarés au LCP, les informations sont saisies dans une base de données informatisée (logiciel ACCESS). Elles permettent l'analyse de la situation épidémiologique de la peste à Madagascar.

En 2010, 324 cas suspects (312 en 2009) ont été déclarés au laboratoire par 26 districts. Trois nouvelles formations sanitaires ont déclaré leur premier cas suspect : Manaotsara du Service du District de Santé Publique (SDSP) de Fianarantsoa I, Manantsoa du SDSP

Ambohidratrimo, Angela du SDSP Miarinarivo. Le taux de confirmation (avec isolement de souche) était de 48,9% soit 115 confirmés /235 prélevés (52,2% en 2009, 57,3% en 2008). Le taux de TDRA positifs était de 75,8% soit 235 positifs / 310 prélevés (63,2% en 2009 et 73 (1,6%) en 2008). Le taux de prélèvement, qu'est le nombre de cas déclarés avec prélèvement sur le nombre de cas suspects, en 2010 était de 95,6% soit 313 déclarations accompagnées de prélèvement / 324 cas suspects (vs 94,3% en 2009 et 91,6% en 2008). 96,1% des SDSP déclarant avaient ce taux supérieur ou égal à la moyenne nationale. Le TDRA est aujourd'hui reconnu comme test de confirmation pour les pays d'endémie pesteuse comme Madagascar. Par toutes méthodes confondues, on constate une amélioration progressive du taux de confirmation de la peste à Madagascar i.e. positifs par TDR ou bactériologie / nombre de cas prélevés. Les indicateurs de performance de ce programme sont donnés dans le tableau I.

Le sex-ratio H/F était égal à 1,4 (188/136) dans l'ensemble des cas déclarés, il était de 1,1 (60/55) dans l'ensemble des cas confirmés par la bactériologie.

Chez les cas déclarés, l'âge moyen était de 18 ans avec une étendue de 1-70 ans et l'âge médian était de 13 ans. Chez les cas confirmés, l'âge moyen était de 17,9 ans avec une étendue de 2-65 ans et un âge médian de 14 ans.

La peste bubonique représentait 89,2% (282/316) des cas déclarés (86,9% en 2009 et 92,7% en 2008). Chez les cas confirmés, le taux de peste bubonique était de 93,9%.

La proportion de peste pulmonaire déclarée était de 10,7% (12,7% en 2009 et 7,3% en 2008). Chez les cas confirmés, elle était de 2,6% (vs 6,3% en 2009 et 3,4% en 2008). Cinq SDSP dont Andilamena, Miarinarivo, Antanifotsy, Tsiroanomandidy et Soavinandriana, ont déclaré en tout 34 cas de peste pulmonaire dont 3 étaient positifs en culture et/ou en TDRA.

La létalité chez les cas déclarés était de 9,3% et de 11,4% chez les cas confirmés. Sur les 30 décès déclarés, 13 étaient confirmés en bactériologie et/ou positifs en TDRA, 2 cas négatifs et aucun cas non prélevé.

La répartition des cas déclarés de peste par district et selon les résultats bactériologiques et TDRA est présentée dans le tableau II.

Tableau I : Récapitulatif des indicateurs de programme peste de 2004 à 2010

Indicateurs	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Nombre cas déclarés	421	412	583	540	312	324
% cas prélevés	90	91,5	82,5	91,6	93,3	95,6
Taux de confirmation par culture	31,1	40	52,9	57,3	52,2	48,9
Taux de confirmation par TDRA	57	62,6	72,8	73,1	63,2	75,8
Taux de peste pulmonaire cas déclarés	10,1	2,5	5,4	7,3	12,7	10,7
% peste pulmonaire cas confirmés	3,6	3,3	2,9	3,4	6,3	2,6
Létalité globale %	8,3	12,4	11,8	13,4	12,7	9,3
Létalité parmi les cas confirmés %	24	16,5	16,4	16,1	19,8	11,4
Nombre SSD déclarants	27	32	31	31	23	26

## Discussions

La situation épidémiologique de l'année 2010 de la peste a été marquée par :

- une augmentation des SDSP concernés
- une légère diminution du taux de confirmation biologique par rapport à l'année 2009. L'automédication des malades, la prise en charge des cas avant les prélèvements et la contamination des prélèvements en sont les causes.

- une diminution des indicateurs remarquables par rapport à l'année précédente, tels la forme pulmonaire et le taux de létalité chez les cas avérés de peste pulmonaire. La létalité attribuée avec certitude à la peste n'était pas descendue en dessous de 10%, objectif du Programme National de Lutte contre la Peste. Cette persistance de la létalité due à la peste mène à évaluer le programme.

Cette évaluation pourrait être réalisée à travers de multiples indicateurs de performance telles l'exhaustivité des déclarations, l'efficacité des prises en charges et des ripostes (couvertures en médicaments, insecticides, tests de diagnostic rapide), l'évolution des létalités, des formes cliniques ...

Une telle évaluation permettrait en partie de savoir si la tendance épidémiologique observée ces dernières années est une conséquence de la performance du programme national de lutte contre la peste à Madagascar ou si d'autres éléments viendraient en explication de l'évolution des différents indicateurs.

Tableau II : Répartition des cas de peste déclarés par SDSP et selon les résultats biologiques

SSPFD	Bactériologie			TDRA LCP		Taux confirmation*			
	NP	Déclarés	%prélevés	N	X		C	N	P
Ambalavao	0	3	100,0	0	0	3	0	3	100,0
Ambatofinandrahana	0	6	100,0	2	1	3	1	5	83,3
Ambohidratrimo	0	6	100,0	2	0	4	0	6	100,0
Ambohimahaso	0	3	100,0	0	1	2	1	2	66,6
Ambositra	0	1	100,0	0	1	0	1	0	0,0
Andilamena	0	15	100,0	6	5	4	5	10	66,6
Ankazobe	0	32	100,0	10	3	19	3	29	90,6
Anta-Avaradrano	0	24	100,0	3	6	15	6	18	75,0
Antanifotsy	0	5	100,0	1	2	2	2	3	60,0
Anta-Renivohitra	0	11	100,0	1	10	0	10	1	9,0
Antsirabe II	0	9	100,0	5	0	4	0	9	100,0
Arivonimamo	14	27	48,1	5	2	6	2	11	84,6
Bealanana	0	6	100,0	5	0	1	0	6	100,0
Betafo	0	2	100,0	2	0	0	0	2	100,0
Fandriana	0	2	100,0	1	0	1	0	2	100,0
Faratsiho	0	5	100,0	1	2	2	2	3	60,0
Fenoarivo Afovoany	0	5	100,0	4	1	0	1	4	80,0
Fianarantsoa I	0	5	100,0	1	4	0	4	1	20,0
Ikalamavony	0	1	100,0	1	0	0	0	1	100,0
Manandriana	0	6	100,0	2	2	2	2	4	66,6
Manjakandriana	0	12	100,0	3	2	7	2	10	83,3
Miarinarivo	0	37	100,0	21	11	5	11	26	70,3
Moramanga	0	1	100,0	0	0	1	0	1	100,0
Soavinandriana	0	9	100,0	4	0	5	0	9	100,0
Tsaratana	0	1	100,0	1	0	0	0	1	100,0
Tsiroanomandidy	0	90	100,0	39	22	29	22	68	75,6
<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>324</b>	<b>95,6</b>	<b>120</b>	<b>75</b>	<b>115</b>	<b>75</b>	<b>235</b>	<b>75,8</b>

\* : taux de confirmation par tous tests confondus (positifs TDRA ou bactériologie/prélevés)  
NP : non prélevé, X : non testé, C : confirmé, P : positif, N : négatif

• **Surveillance de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Y. pestis* isolées à Madagascar**

IPM : C Raharimanana, V Andrianaivoarimanana, M Rajerison

Laboratoire Central de la Peste : M Ratsimba, N Randriananja, L Ralafiarisoa, S Andrianalimanana

MinSanP : DULMN/SLMEN/Div Peste - SDSP foyers de peste

La surveillance régulière de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Y. pestis* isolées à Madagascar revêt un caractère primordial afin de détecter sans tarder l'éventuelle apparition de circulation de souches résistantes. Des prélèvements de cas suspects vivants (bubon et/ou crachat) et post-mortem (foie et/ou poumon) envoyés par les Formations Sanitaires (FS) dans le cadre du diagnostic de routine ainsi que des broyats de puces et de rates des rats capturés dans le cadre de la surveillance de la peste murine ont été testés en bactériologie pour isoler *Y. pestis*.

Cent quinze (115) souches de *Y. pestis* ont été isolées au LCP en 2010. Toutes ces souches ont été isolées chez les humains dont 108 issues du pus de bubons, 3 de crachats, 3 de poumons et 1 de foie. Aucune souche n'a été isolée sur les rats.

Toutes les souches étaient sensibles aux 6 antibiotiques recommandés pour le traitement de la peste (streptomycine, gentamycine, sulfamides : sulfaméthoxazole-triméthoprime, tétracycline, ampicilline et chloramphénicol). La biothèque de l'Unité Peste est aujourd'hui riche de près de 5 700 souches de *Y. pestis* provenant d'humains, de réservoirs et de vecteurs.

• **Supervision de l'utilisation des TDRA dans les centres périphériques**

IPM : C Raharimanana, V Andrianaivoarimanana, M Rajerison

Laboratoire Central de la Peste : M Ratsimba, N Randriananja, L Ralafiarisoa, S Andrianalimanana

MinSanP : DULMN/SLMEN/DivPeste; DRSP Amoron'i Mania; SDSP Ambositra, Manandriana, Ambatofinandrahana

**Objectifs**

Depuis la diffusion en 2002 du TDRA de la peste dans les foyers endémiques à Madagascar, le LCP supervise son utilisation afin de veiller à sa bonne application et afin de pouvoir répondre à la survenue d'anomalies de n'importe quelle nature.

**Méthode**

Cette supervision a consisté à comparer les résultats des tests effectués sur le même prélèvement au niveau du LCP et au niveau de la périphérie. Les investigations sur le terrain effectuées en 2010 étaient basées sur une analyse rétrospective des données de janvier à décembre 2009. Des singularités par rapport aux résultats

des tests bandelettes, *i.e.* des discordances de résultats de TDRA entre la FS et le LCP ou l'absence de résultat de TDRA sur la fiche de notification (TLO). Les DRSP concernées par ces particularités ont été visitées en priorité, une région a été sélectionnée : celle d'Amoron'i Mania. Une demande a été envoyée aux responsables des DRS pour collecter tous les cahiers d'archivage des TDRA des FS concernées, ainsi que d'autres éléments permettant la réalisation de ce suivi (exemplaire de fiches TLO, cahier de stock TDRA, ..). La mission dans la région Amoron'i Mania, en juin 2010 consistait à :

- revoir les résultats de TDRA et essayer de trouver la source de discordance,
- confronter les déclarations au niveau des FS avec celles reçues au LCP,
- voir l'origine de l'absence d'envoi des prélèvements et l'absence de résultat de TDRA,
- responsabiliser les DRSP en vue de former ses agents de santé sur l'utilisation du TDRA (formation des formateurs)
- doter en matériels (kits de prélèvement, TDRA, malles, affiches, guides, atlas peste) lorsque c'est nécessaire.

**Résultats**

Pour les trois SDSP concernés :

- toutes les déclarations n'étaient pas accompagnées de prélèvements,
- mais tous les prélèvements testés dans les FS et envoyés au LCP ont été systématiquement re-testés par la bandelette au LCP. Une comparaison des résultats du TDRA des FS et du LCP a montré 17 cas de discordance.

*Vérification, relecture pour les résultats TDR discordants LCP/FS*

Au niveau des SDSP, il nous a été possible de revoir quelques résultats de TDRA effectués au niveau du CSB en consultant les cahiers d'archivage et les registres de notification de cas de peste de ces centres. Ces consultations nous ont permis de ramener 14/17 résultats à la concordance. En effet, les discordances étaient dues à des erreurs de lecture (fortement positif lu négatif). Par contre, 3/17 résultats étaient restés discordants : trois chefs CSB étant absents au moment de la vérification et il ne nous a pas été possible d'exploiter les autres résultats discordants.

*Analyse des notifications sans résultats TDRA et/ou sans prélèvement*

L'exploitation des archives nous a permis de constater que 11 notifications avaient en fait des résultats de TDRA mais la transcription n'a pas été faite par oubli, 1 notification restait sans résultat du fait de l'absence de

prélèvement. Selon l'agent de santé, ceci était expliqué par une rupture de stock en bandelettes.

### Conclusion

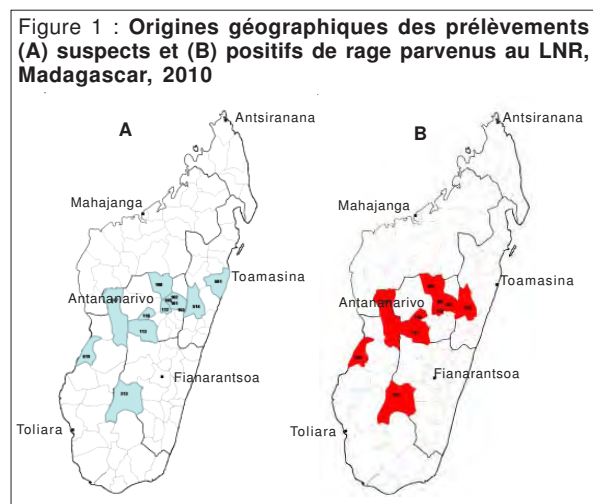
Nous avons constaté un remplissage incomplet des fiches TLO, des prélèvements sans bandelettes et une erreur de lecture. Les explications plausibles étaient la négligence de certains agents de santé, l'insuffisance et même l'absence du suivi et évaluation des activités peste par les responsables des SDSP malgré la supervision faite par le LCP/IPM.

## 6- Laboratoire National de Référence pour la Rage

*SF Andriamandimby, G Razafitrimo, JT Rafisandratantsoa, R Ravaorisoa*

La rage à Madagascar est endémique et essentiellement de type canin. La surveillance de la rage à Madagascar est passive et supportée financièrement par l'IPM et le Ministère de la Santé Publique. Il n'existe pas encore à Madagascar un plan national de lutte contre la rage.

En 2010, le laboratoire a reçu 45 prélèvements d'animaux (39 chiens, 5 chats, et 1 lapin) et 2 prélèvements humains (figure 1A pour la distribution spatiale des cas suspects). Le nombre de prélèvements suspects de rage est en nette diminution par rapport à l'année 2009 (63 en 2009). 23 prélèvements ont pu être confirmés au laboratoire soit un taux de positivité de 49% (figure 1B pour l'origine des cas positifs).



Le nombre global de prélèvements reçus en 2010 a diminué par rapport aux deux années précédentes. Sur les 23 cas confirmés, les chiens représentent plus de 86% avec un taux de positivité pour cette espèce égal à 51,3% (20/39). Il est à noter une recrudescence de la rage canine à Moramanga au début de l'année 2010 avec

4 cas confirmés sur 6 prélèvements reçus (17,4% du nombre total de cas sur tout Madagascar). En 2010, 2 cas humains de rage ont été diagnostiqués au LNR en provenance de Moramanga et de Morondava. Aucun prélèvement n'est reçu des 98 autres districts de Madagascar. Cette lacune au niveau national ne nous permet pas d'avoir une idée de l'importance de la rage à Madagascar. Une étude plus approfondie, et plus élargie sur le plan épidémiologique serait souhaitable à court terme.

En conclusion, bien que marginalisée, la surveillance de la rage notamment canine doit être réactivée et les acteurs de cette surveillance sensibilisés. En effet une extension de cette maladie est à craindre si aucune mesure n'est prise.

## 7- Laboratoire National de Référence pour les Arbovirus et les virus responsables des Fièvres Hémorragiques

*SF Andriamandimby, A Orelle, JP Ravalohery, JT Rafisandratantsoa, J Razainirina*

Suite à l'épidémie de dengue (sérotypage 1) et de fièvre Chikungunya en 2006 dans l'Est de Madagascar (province de Toamasina), nous avons initié la même année dans la capitale provinciale, en collaboration avec les autorités sanitaires locales, une surveillance sentinelle clinique et biologique des arboviroses. Depuis 2007, grâce à différents financements (Banque Mondiale dans le cadre du projet Cresan-2, Ministère de la Santé Français, Département Américain de la Santé Humaine (DHHS)), le LNR en collaboration avec l'Unité d'épidémiologie et les services de la Direction des Urgences et de la Lutte contre les Maladies Négligées (DULMN) et la Direction de la Veille Sanitaire et de la Surveillance Epidémiologique (DVSSE) a participé à la mise en place du réseau sentinelle de surveillance des fièvres. Cette surveillance porte non seulement sur les arboviroses (syndrome dengue-like) mais plus généralement sur les syndromes fébriles dont le paludisme et la grippe. Ce projet permet un suivi en temps réel de l'évolution de ces syndromes dans 31 sites sentinelles. Au sein de ce réseau, 4 sites, Toamasina, Mahajanga, Antsiranana et Taolagnaro sont aussi des sites sentinelles biologiques et envoient de manière hebdomadaire vers l'IPM des prélèvements provenant des cas suspects.

Cette surveillance sentinelle a pour objectifs 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.

Seuls les résultats de la surveillance biologique des



arboviroses seront rapportés ci-dessous. Cette surveillance biologique a pour objectifs spécifiques de confirmer la présence d'un arbovirus lors d'épidémie de syndrome dengue-like ou hémorragique révélée par la surveillance sentinelle clinique ou par d'autres alertes, et de confirmer ou non l'endémicité de certains arbovirus épidémiques (virus de la fièvre Chikungunya et virus de la dengue).

### • Résultats de la surveillance des Arbovirus Surveillance biologique sentinelle

Pour l'année 2010, le LNR a reçu 278 prélèvements dont 90 ont été prélevés une seconde fois. Comparé aux années précédentes, ce nombre est en légère augmentation mais reste encore très en dessous du nombre maximum attendu. De plus, la répartition des prélèvements par site est très hétérogène puisque 75% proviennent du site sentinelle de Toamasina qui est le seul site à envoyer une moyenne de 5 prélèvements par semaine. D'une manière générale, les critères d'exclusion et d'inclusion ont été respectés. Il y a eu plus de 90% prélèvements conformes. Le point le plus délicat reste l'obtention du 2<sup>ème</sup> prélèvement dont la performance moyenne de 32,4% est en dessous de celle attendue (80%). Nous constatons depuis l'année 2009 une chute du nombre de prélèvements provenant du site de Taolagnaro qui n'a envoyé que 6 prélèvements de cas suspects, ainsi que du site d'Antsiranana qui n'a envoyé que 9 prélèvements de cas suspects. La navette du conteneur d'azote liquide a été suspendue pour ces deux sites étant donné le coût du transport par rapport au nombre de cas suspects prélevés sur ces sites. Si des prélèvements devaient être réalisés, ils seraient effectués sur tube sec et envoyés dans les 8 jours à +4°C.

La circulation du virus de la fièvre Chikungunya a été mise en évidence sur la côte Est (Toamasina et Mananjary) (tableau I), de façon sporadique dans un premier temps suivi d'un pic entre avril et mai 2010 pour Toamasina. Les preuves sérologiques ont été mises en

évidence de façon sporadique (avril, mai, août et septembre) dans cette même ville.

Le manque de seconds prélèvements fait que le nombre des statuts indéterminés (47,8%) reste encore important. Il s'agit de cas où nous ne pouvons exclure l'absence d'infection par les virus testés.

### Investigation d'épidémies

En février 2010, suite à une alerte de syndrome dengue-like à Mananjary, nous avons reçu 11 prélèvements du SSD de Mananjary. Les 11 prélèvements ont été positifs pour le virus Chikungunya en RT-PCR en temps réel et en isolement sur cellules. Une investigation menée par l'unité Epidémiologie de l'IPM en collaboration avec les équipes de la DULMN et de la DVSSSE a permis de récolter 90 prélèvements. Le LNR a pu confirmer une infection récente au virus Chikungunya dans 93,3% des cas (84/90). Des sérologies IgM positives ont été observées pour 6 prélèvements. Cette épidémie à virus Chikungunya à Mananjary a permis particulièrement d'évaluer la performance des papiers buvards pour le diagnostic moléculaire de l'infection par le virus Chikungunya. L'utilisation de ce support permettrait de réduire les coûts de transport.

### Conclusion

Cette surveillance biologique a permis de rechercher en temps réel une étiologie arbovirale à certains syndromes fébriles. Cette surveillance a permis de porter le diagnostic d'infections par le virus Chikungunya qui, comme l'année dernière semble circuler entre les mois d'avril et juillet. Malgré leurs coûts élevés, qui a été supporté en partie depuis 2009 par l'IPM, la poursuite sans interruption de ces activités de surveillance de laboratoire semble nécessaire. La mise en place des techniques de prélèvements sur papier buvard devrait permettre de diminuer le coût du transport, ainsi que d'étendre les zones de "surveillance laboratoire". Le coût des analyses de laboratoire reste élevé.

Tableau I : Nombre des sérums reçus des 4 centres sentinelles et nombre de virus isolés, janvier à décembre 2010

Centre sentinelle	Prélèvements précoces	Prélèvements tardifs (%)	Virus détectés (Sérologies positives) <sup>1</sup>	Statut indéterminé (%)
Toamasina	208	83 (39,9)	28 CHIKV (17 CHIK)	101 (48,5)
Antsiranana	9	3 (33,3)	0	6 (66,6)
Mahajanga	13	3 (23,1)	0	10 (76,9)
Taalagnaro	6	1 (16,7)	0	5 (83,3)
Mananjary	42	0 (0)	22 CHIKV (8 CHIK, 1 DEN)	11 (26,2)
<b>Total Patients</b>	<b>278</b>	<b>90 (32,8)</b>	<b>50 CHIKV (25 CHIK, 1 DEN)</b>	<b>133 (47,8)</b>

1 : CHIKV : Infection aigue par le Virus Chikungunya (présence d'ARN viral avec ou sans présence d'IgM dirigée contre CHIKV)

CHIK : Infection récente probable par CHIKV (présence d'IgM dirigée contre CHIKV sans présence d'ARN viral)

FLAVI : Infection récente par un Flavivirus (présence d'une réaction positive en IHA pour la Dengue, mais absence d'IgM dirigée contre les virus testés)

# Autres activités de santé publique

## 1- UNITÉ DE RECHERCHE SUR LE PALUDISME

### SURVEILLANCE DE LA CHIMIOSENSIBILITÉ/RÉSISTANCE DE *PLASMODIUM* À MADAGASCAR

**Coordination :** M Randrianarivojosia

T Andriantsoa, R Raherinjafy, M Jahevitra, E Ravaoarisoa, V Andrianaranjaka, L Randrianasolo, R Ratsimbazafy, R Ratsimbazafy, A Randriamanantena, P Herindrainy

**Financement :** Fonds mondial (janvier à avril 2010) ; Réseau International des Instituts Pasteur ; Institut Pasteur de Madagascar

La réalisation des activités pour la “Surveillance de la chimiosensibilité/résistance de *Plasmodium* à Madagascar” implique l’Institut Pasteur de Madagascar. L’objectif de ce volet est d’augmenter la capacité du Ministère de la santé dans la surveillance de la résistance de *Plasmodium* sp aux antipaludiques.

Deux études d’efficacité thérapeutique de la combinaison artésunate + amodiaquine ont ainsi pu être menées dans deux sites en 2010 : à Vatondry (côte est) et à Miandrivazo (moyen ouest).

Figure 1 : Suivi matinal de malade lors de l'évaluation de l'efficacité thérapeutique de la combinaison artésunate + amodiaquine en milieu rural à Vatondry en 2010



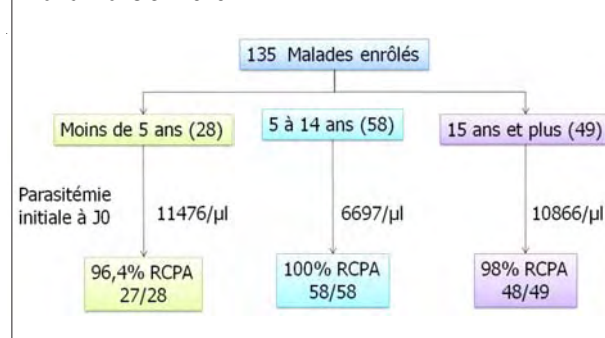
**Efficacité du traitement contrôlé par artésunate + amodiaquine à Vatondry :** l’étude a eu lieu du 12 mars au 30 avril 2010 (figure 2). Ainsi, 63 patients impaludés de 3 mois à 39 ans (âge médian : 9 ans), ont été inclus dans cette évaluation de l’efficacité thérapeutique de la combinaison artésunate + amodiaquine (ASAQ) dans le traitement de l’accès palustre simple à *P. falciparum*. L’enrôlement s’est fait après un diagnostic biologique par TDR. Le médicament a été administré pendant trois jours sous contrôle médical en fonction de

la tranche d’âge. Un suivi de 28 jours a été effectué et l’évaluation de l’efficacité parasitologique de l’ASAQ a été effectuée par microscopie. La médiane de la parasitémie à J0 était de 360 trophozoïtes/ $\mu$ l (extrema : 80 à 15.000/ $\mu$ l). Un seul patient (1,6%) a été perdu de vue à J14. L’analyse *per protocol* montre une efficacité de 100% de l’ASAQ jusqu’à J28.

**Efficacité du traitement contrôlé par artésunate + amodiaquine à Miandrivazo :** l’étude a eu lieu du 31 mars au 31 mai 2010. Pour la première fois, l’efficacité thérapeutique de la combinaison artésunate + amodiaquine (ASAQ) administrée selon la recommandation de la politique nationale dans le traitement de l’accès palustre simple a été évaluée (première dose sous contrôle médical et les traitements des deux jours suivants en ambulatoire).

Sur les 672 patients vus en consultation externe, 388 sont venus pour un paludisme présumé. Les tests de diagnostic rapide ont confirmé le paludisme chez 155 (39,9%) d’entre eux. 140 malades impaludés ont été inclus dans l’étude sans distinction d’âge, de sexe, ou de charge parasitaire (figure 3). Entre J0 et J28, deux patients se sont retirés et trois ont été perdus de vue. En *per protocol*, sur les 135 patients suivis jusqu’à J28 (dont 2 cas de paludisme à *P. vivax* et 133 cas à *P. falciparum*), l’efficacité brute (sans correction par PCR) du traitement non-contrôlé par ASAQ est de 98,5% (IC95% : 94,8 – 99,8%). Ces résultats confirment l’efficacité thérapeutique de l’ASAQ dans le traitement du paludisme non-complicé et indique l’efficacité de ce médicament dans le traitement des accès palustres associés à *P. vivax*.

Figure 2 : Réponses clinique et parasitologique de l'accès palustre simple au traitement non-contrôlé par ASAQ à Miandrivazo en 2010



(RCPA : réponses clinique et parasitologique adéquate)

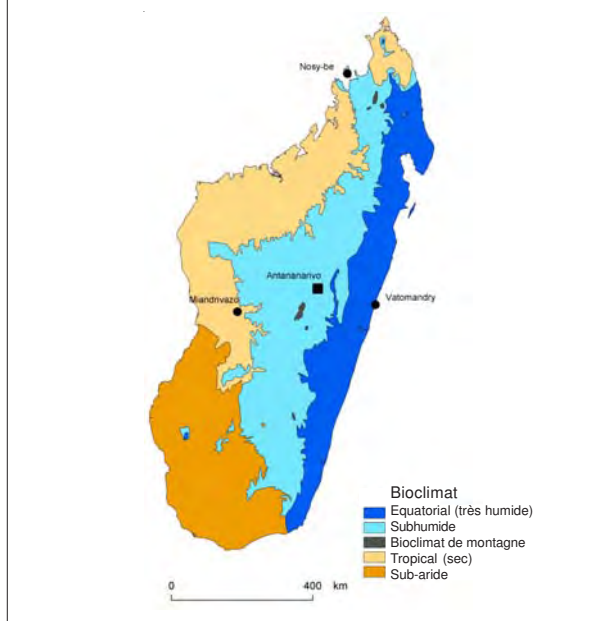
## DÉPISTAGE ACTIF DU PALUDISME CHEZ LES ÉCOLIERS EN APPUI AUX DISTRICTS DE SANTÉ

A Madagascar, on doit s'attendre au fil du temps à une réduction globale du niveau de transmission de *Plasmodium sp.* Cette réduction doit se traduire par une baisse de la prévalence de l'infection plasmodiale au sein de la population générale. Ce qui se manifestera parallèlement par un faible taux de porteurs asymptomatiques de parasites parmi les enfants. Un suivi de cohortes sur plusieurs années dans un site sur le versant Est des marges des Hautes Terres Centrales a permis de démontrer que le risque d'infection plasmodiale demeure élevé chez les enfants de plus de cinq ans [Rabarijaona LP et al. *Malar J* 2009, 8:190]. Ainsi, pour obtenir les premiers résultats sur ce sujet, en appui aux districts de santé, un dépistage actif de *Plasmodium* a été réalisé chez les enfants en âge scolaire de 5 à 14 ans (tableau I).

Tableau I : Prévalence du paludisme chez les enfants de 5 à 14 ans dans trois sites à Madagascar en 2010

Site d'étude	Milieu rural			Milieu urbain			Total	
	TDR -	TDR +	S/total	TDR -	TDR +	S/total		
Miandrivazo	Ecole	351	40	391	140	12	152	543
	Moyen ouest		(11,4%)			(7,9%)		
Moramanga	Village	169	1	170	-	-	-	170
	Marge est		(0,6%)					
Nosy be	Ecole	353	38	391	220	1	221	612
	Nord ouest		(9,7%)			(0,5%)		
Total	873	79	952	360	13	373	1325	

Figure 3 : Situation géographique des sites de dépistage actif du paludisme chez les écoliers en 2010



L'infection plasmodiale a été cherchée chez les 1 325 enfants par les tests de diagnostic rapide du paludisme (TDR) à Moramanga (décembre 2009), Nosy be (avril 2010) et Miandrivazo (mai 2010) (figure 3). Globale-

ment, la prévalence du paludisme chez les enfants est plus élevée en zone rurale ( $p = 0,002$ ). Le contraste entre zone rurale et zone urbaine est moindre à Miandrivazo. Les résultats obtenus à Moramanga suggèrent que l'impact de l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides est net sur les marges des Hautes Terres Centrales.

Le dépistage du paludisme chez les "écoliers" (les enfants en âge de scolarité primaire) peut être utile pour le suivi de l'évolution de la transmission des plasmodies à Madagascar. De plus, les équipes des districts de santé peuvent le réaliser avec les TDR.

## ASSURANCE QUALITÉ

**Coordination :** M Randrianarivelojosa

R Raheinjafy, M Jahevitra, E Ravaoarisoa, S Razanatsiorimalala, L Randrianasolo

**Financement :** President Malaria Initiative (PMI); Institut Pasteur de Madagascar

**Partenaires au sein du Ministère de la Santé Publique :** personnel médical des sites d'étude

En 2010, l'assurance qualité (des outils de diagnostic et des pratiques) comprend des activités visant des objectifs différents :

*Assurer la qualité des tests de diagnostic rapide du paludisme utilisés ou destinés à être utilisés dans les centres sentinelles de surveillance des fièvres à Madagascar*

L'utilisation du test de diagnostic rapide du paludisme (TDR) permet de confirmer les cas d'accès palustre, d'optimiser l'utilisation des médicaments antipaludiques et d'orienter le diagnostic d'une fièvre vers d'autres pathologies que le paludisme. Plusieurs facteurs extrinsèques et intrinsèques influencent le résultat du TDR au cours de son utilisation dans les formations de santé. La performance du TDR sur le terrain, dans la pratique quotidienne notamment en milieu rural, peut être différente de celle rapportée par le fabricant. Afin d'assurer la fiabilité du test de diagnostic rapide utilisé, un contrôle de qualité régulier et rigoureux s'avère nécessaire au niveau des centres sentinelles de surveillance de fièvres à Madagascar. Les résultats du contrôle de qualité des TDR, qui a eu lieu entre octobre et novembre 2009, dans le cadre des activités relatives à la surveillance des fièvres à Madagascar sont présentés ci-dessous. Les manipulations en laboratoire ont été effectuées au cours du premier trimestre 2010.

**Méthodologie :** Par des enquêtes transversales, deux fois dans l'année, un questionnaire préétabli a été rempli au cours des deux jours de supervision des centres

sentinelles, a permis d'évaluer la procédure d'utilisation TDR par les agents de santé périphérique, et de déterminer la performance des TDRs utilisés au niveau des centres sentinelles par rapport aux TDRs conservés au niveau de l'URP à l'IPM, à la microscopie et à la qPCR.

Le TDR testé était de la marque CareStart™ (Access Bio, New Jersey, USA). Il était recommandé et utilisé pour la mise en œuvre de la politique nationale de lutte contre le paludisme à Madagascar. L'étude a porté sur le lot F191R, fabriqué en juin 2009, expirant en mai 2011, et distribué à Madagascar depuis septembre 2009 (période à laquelle l'IPM a reçu les lots de TDR utilisés dans les sites sentinelles).

### Comparaison des résultats des TDR

#### TDR "périphériques" versus TDR "de l'IPM" :

Les TDR ont été effectués avec des bandelettes CareStart™ stockées et utilisées dans les sites. Parallèlement, des TDR ont été réalisés chez les mêmes patients par les superviseurs avec des bandelettes CareStart™ stockées à l'Institut Pasteur de Madagascar.

**TDR versus microscopie :** L'examen microscopique consiste à détecter et compter les parasites présents dans une goutte épaisse pour 500 leucocytes. La parasitémie et la gamétocytémie sont évaluées en admettant qu'un microlitre de sang contient 8000 leucocytes/μl. Ainsi, le seuil de détection est de 16 parasites/μl de sang. Le frottis sanguin mince était éventuellement examiné pour confirmer l'identification de l'espèce plasmodiale détectée. Cet examen était assuré à l'IPM par un technicien expérimenté sous la supervision et le contrôle d'un scientifique senior [Rabarijaona LP et al. *Malar J* 2009; 8 : 190].

**TDR versus PCR :** Les méthodes par PCR utilisées permettent de détecter l'infection palustre associée aux espèces plasmodiale infectant l'homme dont *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*. Des échantillons de sang étaient collectés sur papier buvard dans les sites, acheminés à l'IPM et conservés à -20°C jusqu'à l'utilisation. L'extraction d'ADN est faite à partir des ces échantillons de sang [Randrianariveolosia M et al. *Parasite* 2004; 11 : 419]. La PCR en temps réel par la méthode de Mangold a été utilisée pour la détection des quatre espèces plasmodiales [Mangold KA et al. *J Clin Microbiol* 2005; 43:2435]. Compte tenu des résultats obtenus avec l'ADN contrôle de *P. ovale*, la méthode de De Monbrison était utilisée pour mieux détecter cette espèce [de Monbrison F et al. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2003; 97 : 387].

**Résultats :** Le contrôle qualité des TDRs était effectué sur les centres sentinelles de surveillance des fièvres à Ihosy, Antsirabe, Fianarantsoa, Farafangana, Taolagnaro, Maevatanana, Morondava, Toliara,

Ambovombe et Ejeda. En général, l'examen macroscopique du dessiccant ou gel de silice inclus dans le test ne montrait pas d'anomalie (identique au lot conservé au niveau central). Le stockage du test se faisait dans des conditions de température acceptables et dans un endroit sec sauf dans les zones chaudes comme Maevatanana, Antsohihy et Ambovombe où la température ambiante pouvait dépasser les 35°C. Cependant, le fabricant recommande une conservation des bandelettes entre 4 et 30°C. La manipulation était effectuée par un technicien formé et respectait les procédures d'utilisation du test (quantité de sang, quantité du solvant, durée, ...).

Les anomalies observées au cours de la supervision ont été corrigées par la recommandation de conserver les TDR dans un réfrigérateur pour les centres en zones chaudes. Les mesures de biosécurité ont été renforcées en fournissant les matériels nécessaires. Un chronomètre à bip sonore a été fourni pour assurer le respect de la durée du test. Une différence entre les effectifs de TDR évalués par rapport à la microscopie et PCR est observée du fait de l'absence de l'échantillon de sang sur buvard ou de frottis sanguins.

Les contrôles de test avec un témoin négatif ou positif n'étaient pas effectués faute de lot de contrôle fourni par le fournisseur lors de la livraison. Les résultats des TDR avec des bandelettes conservées à l'IPM versus bandelettes conservées dans les sites sentinelles étaient rassurants car une bonne conservation des valeurs intrinsèques du test a été observée. Par rapport à la microscopie et à la PCR, la valeur prédictive positive est plus faible. Cependant, la spécificité du test (plus de 98% quelque soit le comparateur) était rassurante (tableau II).

Tableau II : Performance de TDR CareStart™ conservés et utilisés dans les sites pour la détection des infections palustres

TDR sur site versus	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	No. test
TDR comparateur	100	100	100	100	197
Microscopie	100	98	75	100	108
RT/PCR	66,6	98,7	66,6	98,7	84

VPP : valeur prédictive positive. VPN : valeur prédictive négative

En guise de conclusion, les missions de supervision jouent un rôle crucial pour la remise à niveau des responsables sur l'utilisation des TDRs dans les centres sentinelles. Il est important d'assurer sans interruption l'approvisionnement des sites en TDRs notamment pour le bon fonctionnement de la surveillance des fièvres et pour améliorer la collecte d'isolats pour la surveillance de la résistance de *Plasmodium sp* aux antipaludiques à Madagascar. Le personnel de santé et les responsables dans les sites de surveillance des fièvres réalisent correcte-

ment les TDR selon la recommandation du fabricant. Les résultats de ce contrôle de qualité de TDR sont rassurants. L'attention des décideurs politiques sera attirée sur le choix de test à utiliser par le programme quand la phase de pré-élimination ou d'élimination du paludisme sera atteinte.

**Évaluer la performance des tests de diagnostic rapide du paludisme destinés à être utilisés dans le système de santé public à Madagascar**

Comme indiquée plus haut, la politique nationale de lutte contre le paludisme à Madagascar vise l'élimination de cette maladie en tant que problème de santé publique [MinSanPF. Conférence internationale sur le paludisme. Antananarivo, Madagascar 2008]. En plus des mesures préventives et curatives (MID, TPI, aspersion intra-domiciliaire d'insecticide), le recours au diagnostic biologique de l'infection palustre est primordial. Le test de diagnostic rapide (TDR) pour le paludisme occupe ainsi une place importante pour améliorer la prise en charge des accès palustres en particulier dans les centres de santé primaires et au niveau communautaire. Cependant, les différentes conditions de manufacture, de transport, de stockage et d'utilisation pourraient influencer la performance des TDR. L'Organisation Mondiale de la Santé accorde une importance notamment à l'amélioration d'un système de contrôle de la qualité (QC) des TDR du paludisme afin de permettre un contrôle systématique des lots de TDR avant leurs distributions et leurs utilisations. Cette mesure ne doit pas être négligée pour des raisons diverses et différentes dont **i**) l'existence d'un nombre croissant de fabricants de TDR avec des normes de fabrication différentes, **ii**) la sensibilité des TDR à la chaleur et à l'humidité lors du transport ou du stockage, et **iii**) la garantie de la fiabilité des résultats de TDR pour que ça soit effectivement une alternative à la microscopie. Dans le présent rapport, les résultats du QC initial (à la réception) de deux lots de TDR fabriqués par STANDARD DIAGNOSTICS, INC., Kyonggi-do, Corée (SD Bioline) sont présentés.

**Lots de TDR testés :** deux lots différents de TDR (lots numéros 090028 et 090061, SD Bioline) destinés aux sites sentinelles de surveillance de fièvre et de la résistance des parasites aux antipaludiques ont été livrés à l'IPM par le Programme National de Lutte contre le Paludisme du Ministère de la Santé Publique le 5 novembre 2010. Les cartons contenant les TDR sont stockés au sein de l'Unité de Recherche sur le Paludisme selon les recommandations du fabricant. Le TDR SD Bioline basé sur la détection de HRP-II spécifique de

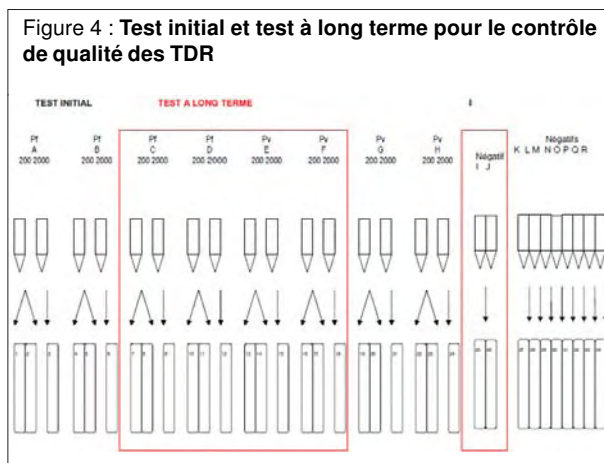
*Plasmodium falciparum* et pLDH pan-spécifique. Les TDR du lot numéro 090061 expireront le 16/06/2012 ; et ceux du lot 090028 le 16/03/2012.

**Echantillons de sang utilisés pour le contrôle de qualité de TDR (product testing panel) :** des échantillons de sang contenant des plasmodies avec des espèces et des charges parasitaires bien déterminées et des échantillons de sang non parasités conservés à -80°C à l'IPM sont utilisés pour le QC des TDR. Ces échantillons ont été préparés selon des procédures strictes depuis la collecte, l'acheminement vers le laboratoire et le stockage. Sont ainsi disponibles des :

- échantillons de sang non parasités (hématies O+ et sérum AB+ ) qui servent de contrôle négatif lors des QC des TDR (SOP 3.09);

- isolats sauvages collectés dans différents sites à Madagascar (SOP 3.03 à SOP 3.07). Arrivés au laboratoire, ces isolats sont préparés pour avoir des gammes de parasitemies bien déterminées (SOP 3.08).

**Conduite du test de contrôle de qualité :** le QC est réalisé selon les procédures décrites dans le manuel de l'OMS et FIND (WHO. Methods Manual For Laboratory Quality Control Testing Of Malaria Rapid Diagnostic Tests. Aug 2008). Le test initial dont les résultats sont présentés dans le présent rapport a été réalisé le 10 novembre 2010 selon la SOP 2.06 (figure 4). Deux personnes expérimentées effectuent et interprètent le test selon la recommandation du fabricant. Les résultats des tests ont été enregistrés 20 minutes après le dépôt de l'échantillon de sang (même si la notice indique qu'on peut lire à la 15<sup>ème</sup> minute). Par rapport à l'intensité de la bande contrôle, l'intensité des bandes visibles est classée "1+" (intensité faible mais visible à l'œil nu) ; "2+" (intensité moyenne, plus intense que 1+ mais moins faible par rapport au contrôle) ; et "3+" (intensité égale ou plus forte par rapport au contrôle).



**Résultats et discussion :** Tous les tests ont été interprétables (bande C visible). Que ce soit pour *P. falciparum* que pour *P. vivax*, le TDR SD Bioline ne détecte pas la présence de l'antigène pan-spécifique pLDH (bande pan non visible) pour des parasitemies à 200 parasites/ $\mu$ l (tableaux III et IV). Sachant que *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae* existent à Madagascar, dans le contexte de l'élimination du paludisme, la baisse de sensibilité de détection des infections palustres à non-*P. falciparum* avec des parasitemies environnant 200/ $\mu$ l de sang sous-estimera l'incidence et la prévalence du paludisme. La sensibilité de la détection de l'antigène HRPII spécifique de *P. falciparum* est correcte (excepté pour l'échantillon MG01F10).

Il est important de comparer ces résultats de QC sur les lots concernés aux résultats de QC à la sortie de l'usine selon les données disponibles auprès du fabricant. Le premier test à long terme sera effectué sur les deux lots de TDR ci-dessus dans trois mois sur des TDR stockés dans de bonnes conditions à l'IPM. Aussi, dans la mesure du possible, ces TDR de SD Bioline (et tous les TDR utilisés à Madagascar en général) devraient être testés par des personnes expérimentées pour détecter le paludisme chez des malades dans des Centres de Santé de Base ou chez des villageois. Parallèlement, la parasitemie des patients seront calculées avec plus de précision en tenant compte de la numération de leucocytes par un automate d'hématologie. L'ensemble des résultats ainsi obtenus sera comparé aux données disponibles sur différentes marques de TDR [Rakotonirina H et al. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 78 : 217 - Ratsimbasoa A et al. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 79 : 670 - Ratsimbasoa A et al. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 76 : 481 - Randrianasolo L et al. *Sante* 2007; 17 : 69] pour asseoir un meilleur choix TDR à recommander pour la politique nationale de lutte contre le paludisme à Madagascar.

**Évaluer la performance des techniciens en microscopie pour la détection des plasmodies en particulier et des hématozoaires en général.**

Pour ce dernier point, l'URP participe au programme OMS/NICD (National Institute for Communicable Diseases, Afrique du Sud) d'évaluation externe de la qualité en microbiologie en Afrique au même titre que le HTD London et le RITM des Philippines. Trois séries de 10 frottis sanguins sont parvenues à l'URP en mars, juin et octobre 2010. Les frottis sont examinés par deux techniciens référents et les résultats sont communiqués à l'OMS/NICD. Quelques semaines plus tard, les com-

mentaires de l'OMS/NICD sont retournés. Les techniciens de l'URP ont toujours rendu des résultats conformes à 100%. Ils ont même reconnu des hémoparasites autres que *Plasmodium sp* (*Trypanosoma sp*, *Wuchereria bancrofti*), ce qui est rassurant pour l'équipe de l'URP et reconfortant pour ses techniciens.

**Tableau III : Contrôle de qualité des TDR SD Bioline lot numéro 090028**

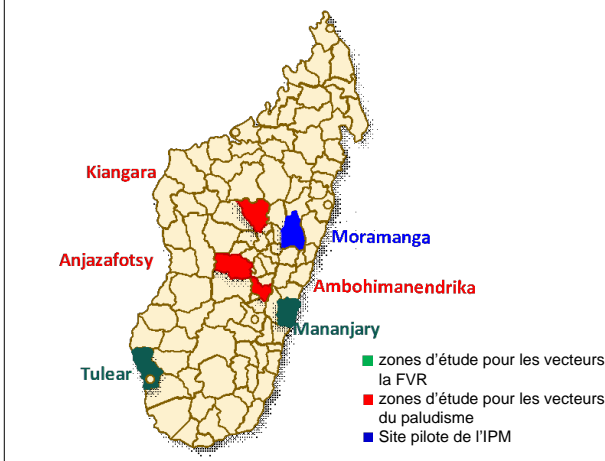
Echantillon de sang	Carton	Parasitémie ( $\mu$ l)	Bandes visibles après 20 min			Résultat du test
			Bande Pf (HRPII)	Bande Pan (pLDH)	Bande C (contrôle)	
<i>P. falciparum</i> MG01F01	1/10	200	3+	0	3+	Positif
		200	3+	0	3+	Positif
		2000	3+	3+	3+	Positif
<i>P. falciparum</i> MG01F02	1/10	200	3+	0	3+	Positif
		200	3+	0	3+	Positif
		5000	3+	3+	3+	Positif
<i>P. falciparum</i> MG01F05	1/10	200	3+	0	3+	Positif
		200	3+	0	3+	Positif
<i>P. falciparum</i> MG01F10	1/10	200	0	0	3+	Négatif
		200	0	0	3+	Négatif
		2000	2+	2+	3+	Positif
<i>P. falciparum</i> MG01F14	2/10	200	3+	0	3+	Positif
		200	3+	0	3+	Positif
		2000	3+	2+	3+	Positif
<i>P. vivax</i> MG01V13	2/10	200	0	0	3+	Négatif
		200	0	0	3+	Négatif
		200	0	0	3+	Négatif
		500	0	1+	3+	Positif
		500	0	1+	3+	Positif
Contrôle négatif	1/10	2000	0	3+	3+	Positif
		0	0	0	3+	Négatif
		0	0	0	3+	Négatif
		0	0	0	3+	Négatif
		0	0	0	3+	Négatif
		0	0	0	3+	Négatif
		0	0	0	3+	Négatif
		0	0	0	3+	Négatif
		0	0	0	3+	Négatif
		0	0	0	3+	Négatif

**Tableau IV : Contrôle de qualité des TDR SD Bioline lot numéro 090061**

Echantillon de sang	Carton	Parasitémie ( $\mu$ l)	Bandes visibles après 20 min			Résultat du test
			Bande Pf (HRPII)	Bande Pan (pLDH)	Bande C (contrôle)	
<i>P. falciparum</i> MG01F01	8/10	200	3+	0	3+	Positif
		200	3+	0	3+	Positif
		2000	3+	3+	3+	Positif
<i>P. falciparum</i> MG01F02	8/10	200	3+	0	3+	Positif
		200	3+	0	3+	Positif
		5000	3+	3+	3+	Positif
<i>P. falciparum</i> MG01F05	8/10	200	3+	0	3+	Positif
		200	3+	0	3+	Positif
<i>P. falciparum</i> MG01F10	8/10	200	0	0	3+	Négatif
		200	0	0	3+	Négatif
		2000	2+	1+	3+	Positif
<i>P. falciparum</i> MG01F14	5/10	200	3+	0	3+	Positif
		200	3+	0	3+	Positif
		2000	3+	3+	3+	Positif
<i>P. vivax</i> MG01V13	5/10	200	0	0	3+	Négatif
		200	0	0	3+	Négatif
		500	0	1+	3+	Positif
		500	0	1+	3+	Positif
		2000	0	3+	3+	Positif
Contrôle négatif	8/10	200	0	0	3+	Négatif
		0	0	0	3+	Négatif
		0	0	0	3+	Négatif
		0	0	0	3+	Négatif
		0	0	0	3+	Négatif
		0	0	0	3+	Négatif
		0	0	0	3+	Négatif
		0	0	0	3+	Négatif
		0	0	0	3+	Négatif
		0	0	0	3+	Négatif

## 2- UNITE D'ENTOMOLOGIE MEDICALE

Figure 1 : Sites d'étude pour les activités de Santé Publique de l'Unité Entomologie Médicale



### Arboviroses

#### INVESTIGATIONS ENTOMOLOGIQUES LORS DE L'ÉPIDÉMIE DE CHIKUNGUNYA À MANANJARY

Unité Entomologie Médicale : N Elissa, L Andrianaivolambo  
Unité Epidémiologie : L Randrianasolo (cf rapport annuel Unité Epidémiologie)

#### Contexte

Une épidémie de chikungunya à Mananjary a été déclarée puis confirmée par l'Unité de Virologie de l'IPM. Une équipe de l'Unité d'Entomologie Médicale, accompagnée d'un médecin épidémiologiste de l'IPM et de deux médecins du Ministère de la Santé, s'est rendue sur place. Des investigations entomologiques ont été effectuées du 15 au 19 février 2010, afin de rechercher la présence du moustique vecteur de cette maladie, d'évaluer sa prolifération et d'estimer les risques de propagation de la chikungunya dans les localités avoisinantes.

#### Sites d'étude (figure 1)

Les investigations entomologiques ont été effectuées dans deux quartiers de la ville de Mananjary dans laquelle l'épidémie a éclaté : Tanambao et Masindrano. Trois sites situés en milieu rural en raison de leur proximité de Mananjary et du risque de propagation de l'épidémie vers ces sites : Irondro, Antsenavola, Tsiatosika ont aussi été prospectés.

25 maisons en moyenne ont été visitées par site d'étude.

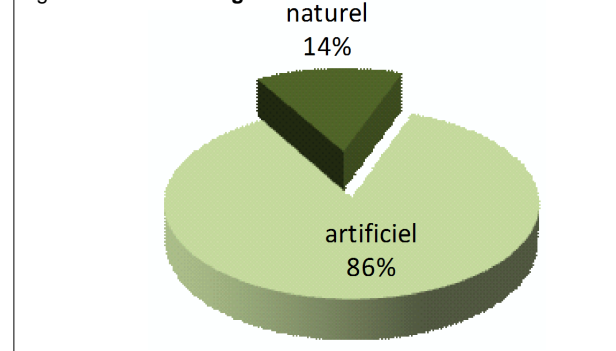
#### Méthodologie

-*Prospection des gîtes potentiels de larves d'Aedes autour des habitations.* La prospection larvaire a concerné tous les gîtes se situant autour des maisons visitées.

-*Echantillonnages de moustiques adultes dans la journée.* Les adultes ont été capturés à l'aide d'aspirateurs à bouche, de pièges lumineux de type CDC, de pièges BG sentinelle avec des leures à odeurs humaines synthétiques. Les pièges ont été placés dans la mesure du possible dans les maisons où au moins un cas de chikungunya a été déclaré (selon questionnaire de porte à porte).

-*Exploitation des échantillons.* Tous les moustiques adultes provenant des émergences ainsi que ceux capturés dans les pièges ont été identifiés et conservés par lot monospécifique, sexe et état de gorgement des femelles dans l'azote liquide jusqu'à l'arrivée à l'IPM où elles sont conservées à -80°C.

Figure 2 : Nature des gîtes



#### Résultats

Quarante quatre gîtes temporaires contenant des larves de moustiques, dont treize dans chacun des sites de Tanambao et Irondro, neuf à Masindrano, huit à Antsenavola et un seul à Tsiatosika ont été répertoriés.

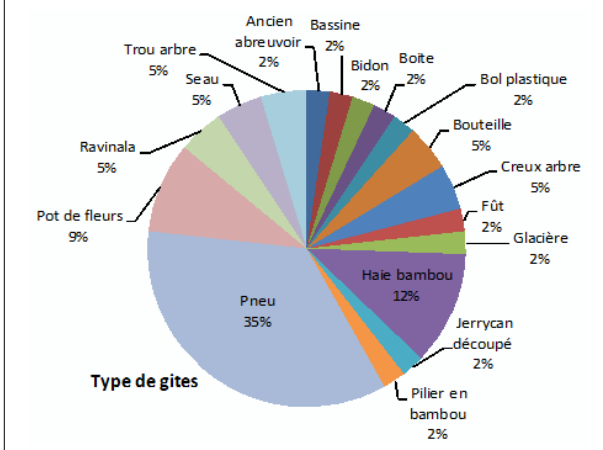
86 % des gîtes retrouvés dans les zones d'études correspondent à des gîtes artificiels (figure 2), les pneus étant les gîtes artificiels potentiels prédominants puisque retrouvés à 35% des cas (figure 3), Les bidons, les boîtes de conserves, les bouteilles cassées, les fûts, les haies de bambou, les pneus, les pots de fleurs et divers récipients constituent la plupart des gîtes.

Des larves de moustiques ont également été retrouvées dans les creux d'arbres et les feuilles de ravinala.

Sur l'ensemble des adultes émergés, nous avons retrouvé 4 espèces de moustiques dont *Aedes albopictus* (vecteur du chikungunya), *Culex giganteus*, *Culex quinquefasciatus* et *Uranotaenia sp.*

Parmi les gîtes artificiels, la plus grande quantité des moustiques toutes espèces confondues a été retrouvée dans les bouteilles, cependant les haies de bambous ont été les plus reproductives en *Ae. albopictus*, vecteur principal du chikungunya ; concernant les gîtes naturels, les ravinala coupés sont très productives en *Ae. albopictus*.

Figure 3 : Productivité des gîtes toutes espèces confondues



### Identification des moustiques suite à capture des adultes

A l'aide d'un aspirateur à bouche, deux *Ae. albopictus* ont été capturés à Masindrano. Aucun moustique n'a été capturé par les trois pièges lumineux placés à Tanambao. Il en est de même pour les deux pièges lumineux et les deux pièges BG sentinel posés à Masindrano.

### Conclusion

Les investigations entomologiques nous ont permis d'identifier parmi les moustiques capturés *Ae. albopictus*, vecteur principal de la transmission de chikungunya.

La typologie des gîtes larvaires montre que les ravinala coupés (24% des *Aedes*) suivis des haies en bambou et des pneus sont les plus productifs en *Ae. albopictus* (respectivement 24%, 17% et 16%).

Ces résultats permettent de proposer certaines stratégies de lutte contre le vecteur par élimination des gîtes temporaires de larves de moustiques et de prendre des mesures de prévention par dépistage (entomologique) actif dans les autres districts le long de la côte Est.

## INVESTIGATIONS ENTOMOLOGIQUES SUITE À UNE DÉCLARATION DE CAS DE RVF À TOLIARA

Unité Entomologie Médicale : N Elissa, L Andrianaivolambo

### Introduction

Une épidémie de RVF à Toliara a été déclarée puis confirmée par l'Unité de Virologie de l'IPM. Une équipe de l'Unité d'Entomologie Médicale de l'IPM s'est rendue sur place. Des investigations entomologiques ont été effectuées du 27 septembre 2010 au 03 octobre 2010, afin de rechercher la présence du moustique vecteur.

### Sites d'étude (figure 1) et Méthodologie

Un échantillonnage de moustiques a été effectué à Ankilibe (23° S 23', 43° EO 44'), un village à l'entrée de la ville de Toliara. Deux nuits de captures ont été réalisées,

avec des pièges lumineux (PL) de type CDC placés autour des bétails (zébus, chèvres, moutons) et à l'aide d'appâts animaux sous doubles moustiquaires (DM). Un aspirateur Back pack (BP) a été utilisé pour collecter des moustiques dans les palmiers pendant la journée.

Une recherche de gîtes larvaires a été menée dans les points d'eau à proximité d'Ankilibe. Les larves ont été conservées dans un flacon en plastique contenant l'eau de gîte. Les larves après élevage et émergence ont été identifiées.

### Résultats

Concernant les captures des adultes, au total 131 moustiques (figure 4) ont été capturés dont 49 avec doubles moustiquaires, 26 par pièges lumineux et 56 à l'aide du back pack (figure 5). 80% des espèces sont représentées par *Ae. skusea*.

4 larves ont été récoltées des gîtes larvaires.

Ces moustiques après identification ont été regroupés en lots monospécifiques puis conservés en azote liquide jusqu'au laboratoire pour la détection du virus de la RVF.

Figure 4 : Répartition des espèces culicidiennes à Toliara

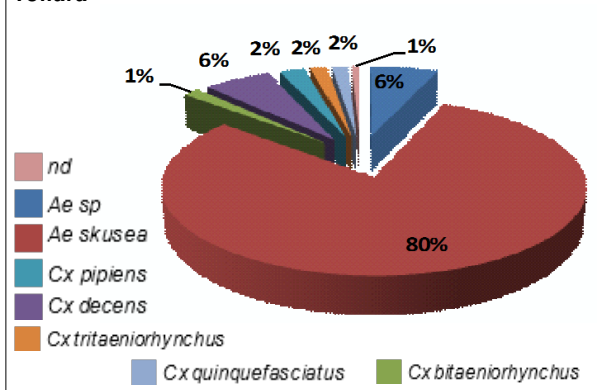
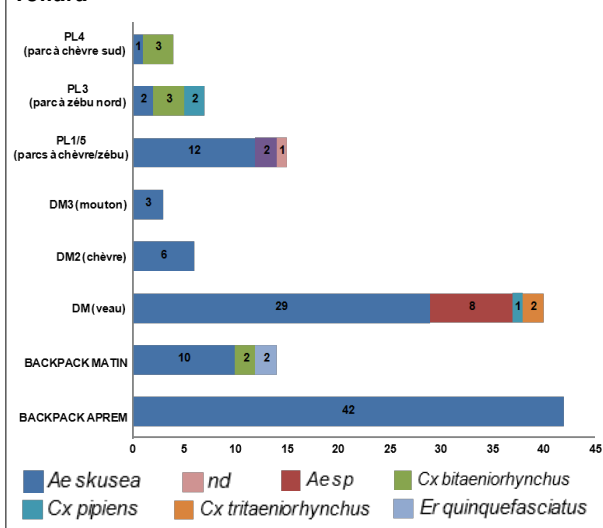


Figure 5 : Espèces culicidiennes par type de capture à Toliara





## Paludisme

### SUIVI ENTOMOLOGIQUE DE LA CAMPAGNE D'ASPERSION INTRADOMICILIAIRE D'INSECTICIDE DANS TROIS VILLAGES DES HAUTES TERRES CENTRALES DE MADAGASCAR

Unité Entomologie Médicale : J Ratovonjato, JC Rakotoniaina, E Tata, T Ramihangihajason, L Andrianaivolambo, N Elissa

Financement : Research Triangle Institute (RTI)

Des enquêtes entomologiques dans 2 localités des Hautes Terres Centrales (HTC) de Madagascar et 1 localité des marges des HTC ont été confiées à l'unité d'Entomologie Médicale de l'IPM dans le cadre d'une convention signée entre l'IPM et RTI. Cette action s'inscrit dans le cadre du Monitoring et Evaluation de la campagne d'aspersion intra-domiciliaire d'insecticide (CAID) (évaluation de la transmission du paludisme, étude de la rémanence de l'insecticide utilisé dans le cadre de la lutte, étude de la sensibilité des vecteurs aux insecticides).

Débuté en décembre 2009, ce suivi a été poursuivi jusqu'en mai 2010.

#### Objectifs

- évaluer l'impact des CAID sur les vecteurs du Paludisme et sur la transmission de cette maladie dans les trois villages Kiangara (district d'Ankazobe), Anjazafotsy (district de Betafo) et Ambohimandrika (district d'Ambohimahasoa),
- étudier la rémanence de l'Alphacyperméthrine (Pyréthroïde), insecticide utilisé dans le cadre de la CAID jusqu'à mai 2010 ; c'est-à-dire jusqu'à six mois après l'aspersion intradomiciliaire,
- étudier la sensibilité aux insecticides des vecteurs du paludisme présents dans les mêmes sites.

#### Sites d'étude

Pour effectuer la surveillance, les sites d'études ont été choisis dans les sept districts d'intervention de RTI/IRS et qui représentent les HTC et leurs marges. En conséquence, les localités pour constituer les sites prioritaires pendant ces suivis sont les suivants : Anjazafotsy (district de Betafo), Vohiposa (district d'Ambohimahasoa), Kiangara (district d'Ankazobe).

Les sites d'études sont trois villages situés sur les HTC de Madagascar :

- Ambohimandrika, commune de Vohiposa, district d'Ambohimahasoa ;
- Anjazafotsy, commune d'Andranomafana, district de Betafo ;
- Kiangara, commune de Kiangara, district d'Ankazobe.

#### Méthodes

Quatre méthodes de collecte de moustiques ont été

utilisées :

- capture sur des Hommes sous doubles moustiquaires non imprégnées d'insecticide à l'intérieur et à l'extérieur des maisons,
- capture à l'aide des pièges lumineux posés près des hommes sous moustiquaires à l'intérieur des maisons,
- capture matinale au pyrèthre des moustiques au repos dans les habitations,
- capture de moustiques adultes dans des gîtes de repos à l'extérieur des maisons.

Après identification sous loupe binoculaire suivie de la PCR pour les moustiques appartenant au complexe *Anopheles gambiae*, les ovaires des vecteurs capturés ont été disséqués pour déterminer leur parturité puis ils ont été testés en ELISA pour étudier leur infectivité et leur préférence trophique.

#### Résultats – discussions

Les importantes observations qui découlent de ce suivi et qui ont fait l'objet d'un rapport technique envoyé au Responsable de RTI Madagascar sont :

1. *An. mascarensis* (présent seulement dans deux sites) et *An. arabiensis* (présent dans les trois sites) sont les deux espèces vectrices de *Plasmodium* humain identifiées pendant la période de suivi.

2. Quel que soit le site d'étude, aucun Anophèle porteur de *Plasmodium* n'a été détecté avant le mois de mars.

3. Combiner les données entomologiques avec des données climatiques; surtout les précipitations s'avèrent indispensables dans la surveillance des vecteurs du Paludisme. Cette combinaison permettrait un choix rationnel de la date et des zones à asperger à Madagascar.

4. Une légère baisse de l'effet *Knock-down* de l'Alphacyperméthrine 0,025% vis-à-vis d'*An. arabiensis* a été observée mais cette espèce reste sensible à ce produit.

5. La CAID 2009 semble inefficace contre les deux espèces vectrices collectées lors de ce suivi. Cette inefficacité, objectivée :

- par l'absence de baisse de la densité globale des populations de moustiques agressifs pour l'homme,
- l'absence d'une baisse de la densité des vecteurs agressifs pour l'homme et de sa densité au repos à l'intérieur des maisons après l'aspersion d'insecticide,
- l'absence de différence significative entre l'âge moyen des vecteurs collectés avant et après traitements insecticides serait due :

(1) au comportement plutôt exophile des vecteurs trouvés (importance d'*An. arabiensis* et *An. mascarensis*),

(2) au manque d'adhésion de la population du village d'Anjazafotsy à la CAID, qui serait en partie en rapport aux changements imprévus d'heure ou de date de visite des

aspergeurs (la période de la CAID coïncide avec le calendrier de repiquage du riz dans la région),

(3) à la succession des dynamiques de la population des deux vecteurs potentiels le long de la saison de transmission (*An. arabiensis* puis *An. mascarensis* à Kiangara),

(4) à la faible rémanence de l'Alphacyperméthrine (sur un mur en brique non cuite qui ne dépasse pas quatre mois; la rémanence observée sur d'autres supports, était inférieure à cette durée).

La conclusion de ce suivi devrait conduire à l'amélioration de certains aspects de la lutte antivectorielle et son suivi entomologique à Madagascar.

#### DOSE D'APPLICATION, RÉMANENCE ET EFFICACITÉ D'INSECTICIDE, POUR LA LUTTE ANTIVECTORIELLE À MADAGASCAR

Partenaires : PNLP : R Rakotoson

Unité Entomologie Médicale : J Ratovonjato, JC Rakotoniaina, E Tata, T Ramihangihajason, L Andrianaivolambo, N Elissa

**Financement** : OMS, Fondation Bill & Melinda GATES, NSA, (firmes privées)

En prévision d'une rotation des insecticides utilisés lors des CAIDs pour une meilleure gestion de la résistance des vecteurs aux insecticides afin d'éviter l'apparition de résistance aux pyréthrinoides et de protéger l'efficacité des moustiquaires imprégnées, de nouveaux produits non encore utilisés pour la lutte contre les vecteurs de paludisme à Madagascar doivent être testés pour étudier la sensibilité et/ou la résistance de ces vecteurs et pour évaluer la rémanence et l'efficacité de ces insecticides vis-à-vis des vecteurs de paludisme, par des essais sur le terrain.

Les objectifs de cette étude sont de :

- connaître la sensibilité et/ou la résistance des anophèles vecteurs du paludisme à l'insecticide utilisé lors des CAID et aux insecticides de remplacement **par les tests de sensibilité / résistance**

- étudier la rémanence de ces produits **sur différents matériaux**

- évaluer l'efficacité sur le terrain **en déterminant l'effet léthal, l'effet dissuasif, l'effet d'inhibition et l'effet d'expulsion de nouveaux produits insecticides.**

en vu d'une future utilisation lors des CAID à Madagascar.

La mise en œuvre de cette étude est prévue, en accord avec le responsable du Service de Lutte contre le Paludisme (PNLP), dans le district de Moramanga (figure 6), qui se trouve sur les marges des HTC de Madagascar et qui représente une zone de transition entre les HTC et la Côte Est.

D'autre part, l'IPM a déjà un site de référence où des études multidisciplinaires sont menées. Dans ce site de

référence, grâce à **un financement OMS/GATES** :

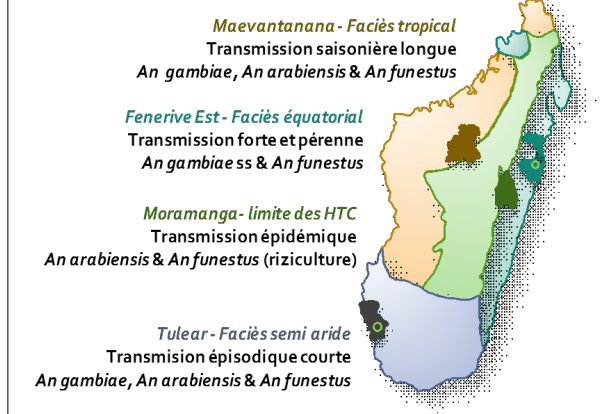
- un laboratoire (permettant les identifications des vecteurs et la réalisation des tests de sensibilité des vecteurs aux insecticides sur site) et un insectarium (pour un élevage des vecteurs nécessaires aux différents tests) ont déjà été aménagés,

- un étudiant (DEA/MASTER) secondé d'un technicien seront implantés à Moramanga pour le suivi des évaluations,

- une vingtaine de cases pièges seront bâties afin de mener les observations concernant l'efficacité des insecticides,

- deux missions de reconnaissance ont été effectuées pour procéder au choix des villages.

Figure 6 : Sites de Surveillance Entomologique et faciès du paludisme à Madagascar



Un complément de financement ainsi que les produits à tester sont à l'étude avec le PNLP suite au désistement des premiers bailleurs.

### Elaboration de projets et perspectives

#### SITES DE SURVEILLANCE PALUDISME

Unité d'Entomologie Médicale : N Elissa

Unité d'Epidémiologie : V Richard

**Financement** : CDC (CGH/DPDM)

### Réseau de surveillance de sentinelle évaluant le paludisme

Le paludisme est un problème important de santé publique au Madagascar où il est endémique dans 90% du pays. Mais, la population entière est concernée par la maladie. Les mesures de lutte contre le paludisme à Madagascar ont augmenté grâce à l'augmentation des financements. Il devient de ce fait essentiel que le PNLP surveille étroitement la tendance du poids du paludisme, dépiste la couverture médicale et l'impact des stratégies de lutte. D'ailleurs, avec la politique des autorités malagasy de l'élimination de la malaria, un système efficace et prompt

de surveillance est vital pour assurer le succès de ce défi énorme.

L'épidémiologie du paludisme, les stratégies d'intervention et le développement du secteur santé varient considérablement entre les différentes régions du Madagascar et cette variation doit être prise en considération dans la méthodologie de surveillance (et par extension de la lutte). Il est donc proposé de développer un système de surveillance pour mettre en application des indicateurs de Roll Back Malaria (RBM) qui reflèteraient les variations principales de l'épidémiologie du paludisme et des interventions.

L'objectif principal de ce projet est la mise en place d'une surveillance entomologique conjointe à la surveillance épidémiologique, basée sur le volontariat et la disponibilité du personnel existant dans les sites sentinelles et en collaboration avec les structures de santé locales ex : Direction Régionales de la Santé, médecins inspecteurs.

Il sera question d' :

1. évaluer la morbidité et surveiller les tendances du paludisme à Madagascar par la mise en place d'un réseau de surveillance sentinelle;
2. identifier les activités entomologiques et les méthodologies pour associer des données entomologiques avec des données sur les cas de paludisme humain.

Cinq sites d'étude différents seront choisis selon la situation épidémiologique de Madagascar (figure 6)

- Toliara au Sud
- Fénérive Est à l'Est
- Maevatanana dans les HTC (où les indices parasitologiques étaient élevés)
- Moramanga à la frontière des HTC. L'existence de site pilote de Moramanga est une opportunité pour la mise en œuvre de cette première année du projet. De plus, Moramanga représente une zone de transition entre le HTC et la côte Est où plusieurs espèces de vecteurs sont présentes.

### 3- RÉSEAU DE SURVEILLANCE SENTINELLE

#### Introduction

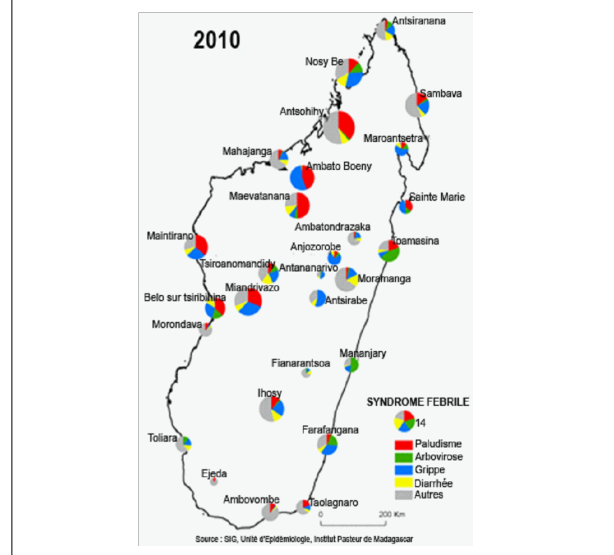
Un système de surveillance sentinelle des fièvres a été mis en place à Madagascar depuis 2007, afin de déclencher précocement une alerte et une riposte face à une menace d'épidémie (figure 1).

#### Méthodes

La surveillance sentinelle s'appuie sur des centres de santé de base par (i) une surveillance clinique par envoi quotidien d'un SMS avec le nombre de consultants, de

fièvres, de paludisme confirmé par TDR, de syndrome dengue-like (SDL), de syndromes grippaux et de diarrhées. Ces données sont collectées quotidiennement dans une base de données et sont analysées en temps réel afin d'identifier des signaux d'épidémie (ii) une surveillance biologique des arboviroses et de la grippe par envoi hebdomadaire de prélèvements biologiques par certains centres permet de suivre la circulation de virus.

Figure 1 : Sites de surveillance sentinelle



#### Résultats

Ce réseau s'appuie en 2010 sur 31 centres de santé de base (13 en 2007 et 15 en 2008, 23 en 2009). En 2010, 17 alertes ont été objectivées, 88,2% ont été contrôlées par le niveau local. En 2010, les consultations pour syndrome fébrile représentaient 10,8% des consultants (12,2% en 2007, 13,9% en 2008, 11,8% en 2009). Parmi les syndromes fébriles, la part du paludisme était de 16,7% (13,4 en 2007 et 10 en 2008, 10,9 en 2009), celle des SDL de 11,5% (20,4 en 2007, 9,9 en 2008, 10,2 en 2009), celle des syndromes grippaux 7,4% pour (16,7 en 2007, 10,3 en 2008, 21,3% en 2009) (autres viroses respiratoires 12,8%) et la part des diarrhées de 9,8% (7,2 en 2008, 8,4 en 2009). Les examens biologiques ont montré la circulation d'arbovirus (Chikungunya) et des virus grippaux (saisonnier, A/H1N1v).

#### Conclusion

Le réseau sentinelle de Madagascar avec une transmission quotidienne des données est un outil complémentaire d'un système de surveillance passive pour l'identification de phénomènes épidémiologiques anormaux.

#### • Réseau hospitalier de surveillance sentinelle

Pour une extension des activités de surveillance sentinelle des maladies à potentiels épidémiques et dans le cadre de la préparation de la lutte contre la grippe

pandémique (liée à la grippe aviaire), un réseau de surveillance hospitalier a été mis en place depuis 2008 dans la plupart des hôpitaux régionaux sur un certain nombre de sites du réseau de surveillance sentinelle du niveau périphérique. Il cible de façon plus particulière les formes graves de paludisme et des infections par les virus grippaux.

### Objectifs

#### *Objectif principal*

- détecter les cas suspects de grippe aviaire (malade hospitalisé ou décédé).

#### *Objectifs spécifiques*

- surveiller l'incidence des syndromes de détresse respiratoire aiguë (SDRA)
- déterminer la charge de morbidité liée au syndrome fébrile en particulier le paludisme grave, les syndromes hémorragiques et les hépatites graves
- établir les tendances épidémiologiques de référence pour chaque centre hospitalier sentinelle.

### Méthodologie

Il s'agit d'une surveillance syndromique respectant les normes de la surveillance définie par WHO/CDS/CSR/ISR/99.2 dont les principales maladies à surveiller sont les syndromes de détresse respiratoire aiguë (SDRA) et les syndromes fébriles incluant le paludisme grave, les fièvres hémorragiques et les hépatites graves. Les services participants à la surveillance sont les services des urgences, de réanimation, de médecine et des maladies respiratoires.

Un état récapitulatif hebdomadaire donnant la synthèse de la situation des différents services sur les malades hospitalisés et les cas de décès est transmis à l'Institut Pasteur de Madagascar pour compilation et analyse des tendances épidémiologiques.

### Résultats

Le réseau de surveillance sentinelle au niveau hospitalier s'appuie en 2010 sur 17 centres hospitaliers (5 en 2008 et 15 en 2009). Une seule alerte sur SDRA a été constatée et il s'agissait d'une infection mixte par des virus grippaux saisonniers. En 2010, les admissions pour syndrome fébrile ont représenté 21,4% des malades hospitalisés (23,4% en 2008, 17,1% en 2009). Parmi les syndromes fébriles, la part du paludisme a été de 19,3% (1,3% en 2008, 17,6% en 2009), celle de SDRA de 5,8% (8,1% en 2008, 8,7% en 2009), celle des fièvres hémorragiques 0,5%, celle des hépatites graves 2,1% et la part des méningo-encéphalites 0,7%.

Parmi les cas de SDRA, 15% ont correspondu aux critères de grippe pandémique A/H1N1 (n=566).

Sur 1896 cas de paludisme confirmé, 28,5% ont été diagnostiqués chez les enfants âgés de moins de 5 ans.

En 2010, le taux de décès est de 6,6% des malades

hospitalisés (6,5% en 2008, 5,6% en 2009).

### Conclusion

Le système de surveillance sentinelle au niveau hospitalier est fonctionnel. Cependant une amélioration du système semble nécessaire pour déterminer les tendances épidémiologiques des syndromes fébriles : paludisme et SDRA.

### • Investigations d'épidémie

#### *Chikungunya - Mananjary (février 2010)*

**Alerte** : Depuis juillet 2009, des cas suspects d'arboviroses ont été notifiés par le responsable du centre de santé de base de Mananjary. Le 09 février 2010, 9 cas parmi 10 échantillons biologiques analysés à l'IPM, étaient positifs pour le virus de Chikungunya. Au cours de la même période, le virus grippal pandémique circulait également à Madagascar. Une mission d'investigation épidémique de l'équipe de l'Institut Pasteur de Madagascar a été effectuée du 15 au 19 février 2010 pour déterminer la situation épidémique et les risques de transmission de la maladie.

#### Objectifs

Déterminer la situation épidémique (confirmer ou infirmer) dans la commune de Mananjary.

Évaluer l'importance des fièvres et du paludisme dans le centre de santé de base urbain de Mananjary.

#### Méthode

Les données ont été collectées dans les registres de consultations externes et les registres d'utilisation de test de diagnostic rapide (TDR) du paludisme sur la période du 01<sup>er</sup> septembre 2009 au 04 février 2010.

#### Résultats

L'épidémie a commencé au mois de novembre 2009 avec un pic en janvier 2010. Il a été noté une variation journalière des indicateurs de fièvre et des signes respiratoires (figure) : augmentation de l'indicateur des fièvres à partir du 11 septembre 2009 avec un pic au 09 novembre 2009. Puis une tendance à la diminution de cet indicateur jusqu'au 08 janvier 2010 et un deuxième pic vers le 02 février 2010.

Les 12 Fokontany de Mananjary ont été touchés. De plus, quelques communes rurales sont touchées : Antsenavolo (Irondro), et Tsaravary.

776 cas suspects sur 1 135 consultants ont été notifiés. Des infections par le virus de la grippe pandémique A/H1N1v ont été retrouvées (33,3% des prélèvements analysés, n=15).

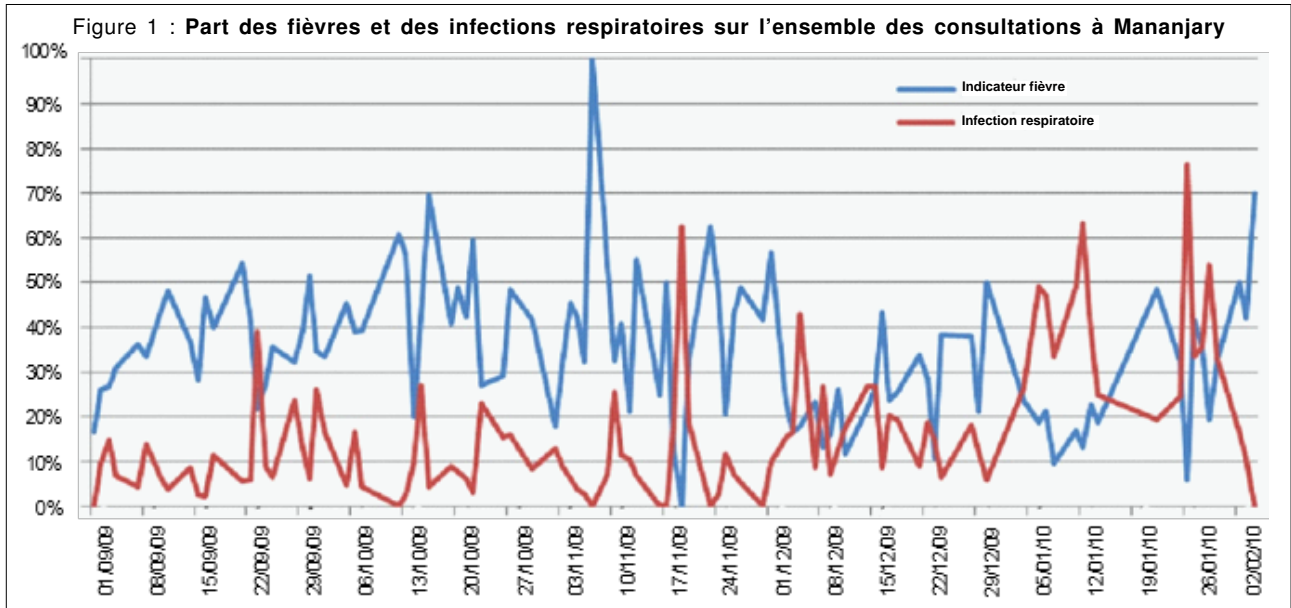
Après vérification du registre du CHD2, deux cas hospitaliers, sans décès, ont été identifiés.

Les haies en bambou ont été identifiées comme gîte potentiel des moustiques vecteurs (Aedes).

## Recommandations

Mener une lutte antivectorielle ciblant les gîtes larvaires identifiés (cf rapport unité d'entomologie).

Mettre en place un site de surveillance sentinelle à Mananjary.



---

---

# **ACTIVITES DE SERVICE**

---

---

---

---

# ACTIVITES DE SERVICE

---

---

## ***Considérations générales***

*L'IPM met à la disposition de la population, des organismes publics et privés, et des entreprises, un certain nombre de services pour lesquels il assure souvent, de fait ou sur titre, un rôle de référence.*

*Certains de ces services sont totalement gratuits, c'est le cas de la mise à disposition du vaccin antirabique sur l'ensemble du territoire malgache.*

*D'autres sont payants, comme les analyses médicales, les contrôles bactériologiques alimentaires ou les services du Centre international de vaccination. Dans ces cas, il existe toujours au sein de l'unité une activité de santé publique ou de formation qui prolonge l'activité de service.*

*Les activités payantes, selon un tarif modulé en fonction des catégories sociales et des possibilités de prise en charge par des organismes ou entreprises, contribuent aux ressources propres de l'IPM, totalement réinvesties dans le soutien des interventions et recherches en Santé Publique.*

Le Centre de Biologie Clinique 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 termes de ressources humaines, le laboratoire dispose :

- 3 Médecins biologistes
- 1 Médecin spécialisé en anatomo-cytologie pathologie
- 1 Médecin généraliste suppléante au LACP et aux prélèvements vaginaux
- 2 Responsables qualité dont 01 en formation jusqu'au 30 septembre 2010
- 1 Sage femme
- 1 Surveillante
- 19 Techniciens de laboratoire
- 2 Aides techniciens de laboratoire
- 2 Agents de laboratoire
- 8 Secrétaires

*Le CBC est ouvert au public en heure continue de 07 heures à 17 heures du lundi au vendredi et reçoit 250 à 300 patients et/ou prélèvements par jour.*

• *Les moyens techniques et les compétences du CBC sont aussi mis au service des projets de recherche de l'IPM ou du RIIP en particulier pour les volets qui requièrent les compétences du CBC, à savoir : bactériologie, biochimie, hématologie, immuno-sérologie et anatomo-cytopathologie.*

• *Le CBC en collaboration avec le Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement (LHAE) est Centre National de Référence pour *Vibrio cholerae*, *Salmonella* et *Shigella*, mais il joue un rôle important dans la surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques.*

• *Enfin, le CBC joue un rôle majeur dans la formation théorique et pratique des internes en biologie médicale des Universités de Madagascar en étant un terrain de stage obligatoire pendant leur cursus.*

## Plateau technique

**Il est dimensionné pour assurer un bon fonctionnement du laboratoire pour 400 dossiers /jour**

Matériel informatique

- 2 serveurs bull dont 01 qui sert de back-up
- 27 micro-ordinateurs servant d'écrans à l'unité centrale
- 23 imprimantes dont 3 code à barre pour l'accueil
- 1 logiciel Hexalis (Agfa-Healthcare)

Automates de laboratoire

*Biochimie*

- 02 KONELAB 30 ISE (Thérmo scientifique) en connexion bidirectionnelle avec le logiciel HEXALIS
- 1 MINICAP de SEBIA pour les électrophorèses des protéines et hémoglobines

*Hormono/Immuno*

- 2 VIDAS PC Biomérieux en connexion monodirectionnelle avec le logiciel HEXALIS
- 2 AxSYM ABBOTT en connexion bidirectionnelle avec le logiciel HEXALIS

*Hématologie*

- 1 Start 4 Stago
- 1 centrifugeuse Carte gel Groupe RAI BIORAD
- 1 centrifugeuse Carte gel Groupe DIAMED
- 2 Automates Sysmex ® : XT2000i et XT1800i en connexion monodirectionnelle avec le logiciel HEXALIS

*Bactériologie*

- 1 OSIRIS BIORAD en connexion monodirectionnelle avec le logiciel HEXALIS
- 1 Inoculateur pour CMI
- 1 système Scan'Bac, 2SI en connexion bidirectionnelle avec le logiciel HEXALIS
- 2 PSM (poste de sécurité microbien de classe II).

## Activités de service

**En 2010, le laboratoire a traité 67 063 dossiers soit 260 dossiers/j et 11 664 353 B.**

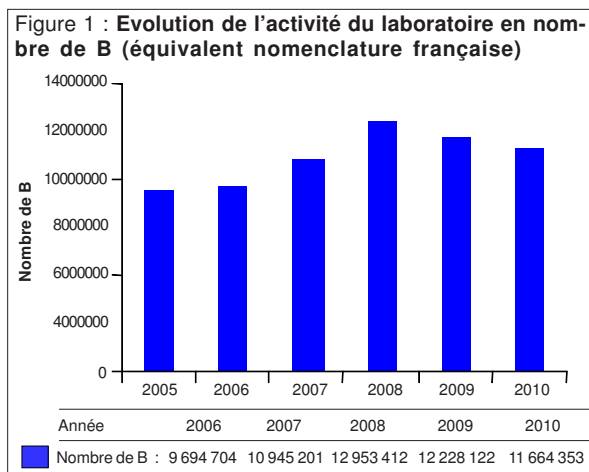
Cette baisse relative du nombre de B réalisés à l'IPM est due aux analyses que le laboratoire ne fait pas sur place mais qui sont envoyées chez CERBA Paris. Ces analyses ont augmenté et comme elles ne sont pas cotées en B dans le SIL elles ne sont pas prises en compte dans cette statistique.

Les activités du laboratoire n'ont pas été affectées par la crise politique qui a commencé en janvier 2009 et qui est toujours d'actualité et ce malgré l'interruption de la prise en charge des patients membres de la fonc-



tion publique (qui représente 40% des patients) pendant 08 mois.

L'évolution des activités du service évaluées en nombre de B durant les 5 dernières années est représentée par la figure 1.



Ces activités de service sont réparties en 05 secteurs :

- En biochimie : 191 126 analyses
- En hématologie : 44 823 analyses
- Microbiologie (Bacterio+Parasito+Myco+Spermio) : 29 434 analyses
- En Immuno-sérologie : 56 832 analyses
- Les analyses envoyées chez CERBA : 4 015 dossiers
- Anato-mo-cytopathologie (cf rapport d'activité LACP) : 4 227 dossiers

### La démarche qualité au CBC

La démarche qualité au CBC est sous la responsabilité du Directeur de laboratoire et des responsables qualité (RQ) Mlle C. Teillet et Mr H. Ramaherison.

La démarche qualité en vue de l'obtention de l'accréditation à la norme ISO 15189 fait partie intégrante de l'activité de service du laboratoire et elle est en bonne voie.

Si le démarrage a été difficile en 2009 avec une réticence manifeste du personnel, elle a été très bien acceptée en 2010, l'audit du personnel a montré que la totalité souhaite poursuivre cette démarche en vue d'une accréditation du laboratoire avec la norme NF EN ISO 15189 en 2012.

Les principaux éléments mis en œuvre en 2010 :

#### Pré-analytique

1. Manuel de prélèvement rédigé diffusé en ligne (intranet IPM et sur Internet) et téléchargeable
2. Catalogue des analyses mis à jour tous les 06 mois et en ligne aussi comme le manuel de prélèvement
3. Les modes opératoires des prélèvements effec-

tués au laboratoire et en dehors du laboratoire : 90% sont diffusés et figurent dans le manuel de prélèvement, toutes les recommandations relatives aux étapes pré-analytiques aussi figurent dans le catalogue et/ou le manuel de prélèvement.

#### Analytique

##### Validation de méthodes

- la validation initiale lors de changement de méthode ou d'automate : tous les paramètres en biochimie ont été validés avant la mise en service des 02 konelab, la comparaison de méthodes avec le vitros a été faite pour 80% des paramètres. 20% des paramètres n'ont pu être comparés car les réactifs sur les vitros étaient épuisés.

- La validation continue de tous les paramètres en biochimie, immuno-sérologie et hormonologie est faite en permanence avec les Evaluations Externes de Qualité (EEQ) et Contrôles de Qualité Interne (CQI) quotidiens.

Les CQI de qualité interne sont faits tous les jours dans les secteurs hématologie, biochimie, immunologie et hormonologie, ils servent à vérifier l'état des réactifs et des automates.

En bactériologie, utilisation des CIP (collection de l'Institut Pasteur à Paris) toutes les semaines au moment de la réception des nouveaux lots des milieux de culture, en même temps sont contrôlées la stérilité et la validité de tous les milieux, consommables et réactifs utilisés en bactériologie.

Les EEQ sont réalisées périodiquement et régulièrement, elles évaluent la compétence du personnel du laboratoire, elles permettent aussi de réaliser la validation continue de méthodes du laboratoire et tous les secteurs du CBC sont concernés.

##### Les EEQ et taux de participation du CBC en 2010 :

1. Avec la société PROBIOQUAL France :
  - \* Biochimie sanguine HEBDOMADAIRE : 94,3%
  - \* Biochimie urinaire MENSUELLE : 94,1%
  - \* Clairance MENSUELLE : 100%
  - \* Hémostase MENSUELLE : 87,5%
  - \* Immunodosage et marqueurs tumoraux BIMESTRIELLE : 83,3%.

2. Bactériologie avec CTCB (centre Toulousain pour le contrôle de qualité en Biologie clinique) : 05 EEQ

3. Bactériologie avec Biologie prospective : 05 EEQ

4. AFSSAPS : Nombre de participations EEQ AFSSAPS : 12 (2 bactériologie, 2 Biochimie, 2 Hématologie, 2 Sérologie virale, 1 Western Blot HIV, 1 Parasitologie, 1 Hormonologie, 1 Marqueurs tumoraux.

La difficulté dans les EEQ réside de l'éloignement géographique par rapport aux fournisseurs qui fait que, parfois les échantillons sont reçus alors que la date limite de saisie des résultats est déjà dépassée.

Les documents qualifiés (procédure, mode opératoire) :

- 80% des modes opératoires en bactériologie sont rédigés et diffusés.
- Ceux des autres secteurs, sont en cours de rédaction.

**Post analytique**

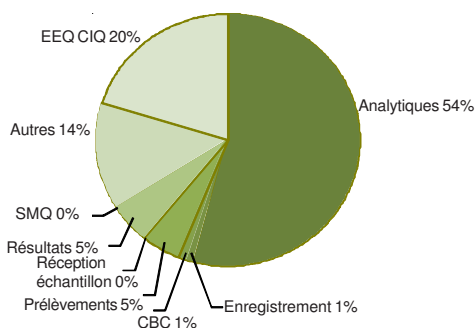
Toutes les procédures pour les validations biologiques, procédures post-analytiques, conservation des échantillons et gestion des déchets sont rédigées.

**En ce qui concerne le système de management de la qualité (SMQ) :**

*Déclaration des non-conformités et anomalies*

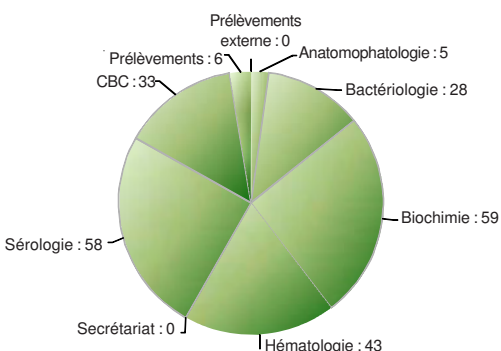
**Répartition des déclarations par phase (maj le 17.02.2011)**

Phase	Nombre	Pourcentage
Analytique	126	54
Enregistrement	2	1
CBC	3	1
Prélèvement	11	5
Réception échantillon	1	0
Résultats	12	5
SMQ	0	0
Autres	32	14
EEQ CIQ	47	20
	234	



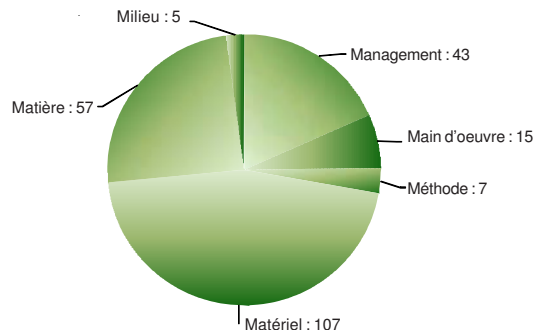
**Répartition des déclarations par secteur**

Secteurs	Nombre	Pourcentage
Anatomopathologie	5	2
Bactériologie	28	12
Biochimie	59	25
Hématologie	43	18
Secrétariat	2	1
Sérologie	58	25
CBC	33	14
Prélèvements	6	3
Prélèvement externe	0	0
	234	



**Répartition des déclarations par «M»**

Par « M »		Pourcentage
Management	43	18
Main d'œuvre	15	6
Méthode	7	3
Matériel	107	46
Matière	57	24
Milieu	5	2
	234	



La majorité des anomalies concerne le matériel en particulier les analyseurs. Pour y remédier, le laboratoire a remplacé ou doublé ou a renforcé la maintenance des analyseurs. Mais les pannes sont aussi dues aux coupures fréquentes de l'électricité qui ne dépend pas de l'IPM.

**Formations et réunions qualité**

Les réunions qualité font parties de la formation continue du personnel; c'est pendant ces réunions que le personnel prend connaissance des nouveaux documents en vigueur. C'est aussi une occasion de faire des rappels, des mises à jour des connaissances et d'engager des discussions sur des problèmes rencontrés au laboratoire.

- Les réunions qualités du service sont organisées en moyenne toutes les 02 semaines, la majorité du personnel doit assister et l'émargement de la feuille de présence est obligatoire. En 2010, nous avons eu 17 réunions qualité

- Une réunion du comité de pilotage est organisée tous les mois avec la direction du CBC et la direction de l'IPM. C'est une réunion de mise au point pour le suivi des travaux.

- 2 revues de directions tous les ans pour évaluer l'efficacité et les axes d'amélioration.

**Audits internes**

4 Audits ont été faits (gestion documentaire, gestion matérielle, système de management de la qualité, gestion et dossier du personnel).

**Audits de satisfaction**

2 audits de satisfaction ont été faits (satisfaction des clients (résultat en Annexe 1); satisfaction de personnel du CBC (résultat en annexe 2)).

## Activité de santé publique

En santé publique, les actions du CBC se limitent essentiellement aux conseils en antibiothérapie, en hygiène hospitalière et à l'activité du Centre National de Référence pour *Vibrio cholerae*, *Salmonella* et *Shigella* situé à l'IPM en collaboration avec le LHAE de l'IPM.

En antibiothérapie, notre rôle consiste à conseiller le Ministère de la Santé Publique et les praticiens pour le traitement des bactéries multirésistantes, très abondantes dans les services hospitaliers d'Antananarivo.

Le laboratoire a été sollicité par le Ministère de la Santé Publique en septembre 2010 pour avis sur la résistance des *N. gonorrhoeae* à la ciprofloxacine. Un rapport technique a été rédigé par Dr E Ratsima et envoyé au Ministère de la Santé Publique sur la résistance des souches de *N. gonorrhoeae* isolées à la ciprofloxacine au CBC. Le rapport technique est en annexe 3. Ce travail a entraîné la modification de la stratégie thérapeutique des infections sexuellement transmissibles par le Ministère de la Santé Publique.

En tant que CNR *Vibrio cholerae*, *Salmonella* et *Shigella* le laboratoire reçoit des prélèvements suspects de cholera, nous fournissons aussi des kits de prélèvements rapides à l'ensemble des formations hospitalières de Madagascar et intervenons, à la demande du ministère, sur des épidémies de syndromes diarrhéiques et TIAC.

En 2010, nous avons isolées :

- 16 souches de shigelles dont 8 souches de *S. sonnei*, 7 souches de *S. flexneri* et 1 souche de *S. dysenteriae*
- 9 souches de salmonelles dont 3 souches *S. typhi*, 3 souches *S. Enteritidis*, 1 souche *S. Typhimurium* et 1 de *S. Newport*.

## Recherche et formation

En 2010, avec l'effectif réduit des biologistes et la démarche qualité du laboratoire, le temps consacré aux activités de recherche a diminué. Néanmoins, le CBC participe activement à tous les projets de recherche de l'IPM ou du RIIP qui nécessitent ses compétences en bactériologie, biochimie, hématologie et sérologie.

Le CBC collabore avec les Unités d'épidémiologie et de virologie sur les :

- Infections materno-fœtales, projet financé par l'association JEREMY
- Syndromes de détresse respiratoire aigües (SDRA)
- Diarrhées à *Campylobacter*.

## Conclusion

Le Centre de Biologie Clinique est un laboratoire d'analyses médicales polyvalent dont les activités ne se limitent pas aux activités de service. Le laboratoire

s'implique activement dans les activités de santé publique, de recherches et de formation. Les perspectives pour l'année 2011 seront toujours l'amélioration continue et la démarche qualité pour obtenir l'accréditation NFEN ISO 15189.

## Annexe 1

### Mesure de la satisfaction des patients du CBC en janvier, février et mars 2010

#### Introduction

Dans le cadre de sa démarche Qualité et suite au déménagement du laboratoire, le CBC a procédé à l'évaluation de la satisfaction des patients se déplaçant au laboratoire.

#### Matériel et Méthode

Les questionnaires en français et en malgache ont été remis aux patients du CBC directement par les secrétaires. La période de recueil des questionnaires s'étend du 21/01/2010 au 23/03/2010.

Les formulaires sont organisés en 4 grandes parties que sont l'accueil, le prélèvement, le rendu des résultats et des généralités.

Les résultats ont été saisis et traités à l'aide du logiciel EPI Info, version 3.4.1.

#### Résultats

Nombre de questionnaires remis : 228

Nombre de questionnaires reçus : 60

Taux de retour : 26%

#### Accueil

Les horaires d'ouverture du laboratoire sont globalement satisfaisants pour les patients du CBC. Cependant, pour 8% des réponses (5 personnes), ils sont peu satisfaisants.

La qualité de l'accueil téléphonique ne satisfait pas les clients, même si globalement, la prestation est satisfaisante tout comme la qualité de l'accueil physique.

La durée de l'attente avant l'enregistrement du dossier montre une proportion de 30% de "peu satisfaisant" et de "insatisfaisant". Deux patients indiquent avoir attendu plus de 1 heure.

La gestion des files d'attente est dans l'ensemble satisfaisante mais avec 10% de "peu satisfaisant" et "d'insatisfaisant".

Le respect de la confidentialité lors de l'enregistrement est satisfaisant et très satisfaisant à 88%.

La prise en charge administrative convient également aux patients.

Le délai d'attente entre l'enregistrement et le prélèvement montre une insatisfaction cumulée de 14% soit moins que pour le délai avant enregistrement.

Dans ces locaux, 5 personnes indiquent que la si-

gnalétique est insatisfaisante et peu satisfaisante.

La propreté des locaux ne fait pas l'objet d'une mauvaise évaluation.

#### *Prélèvement*

La réalisation du prélèvement est jugée satisfaisante pour 98% des patients comme le respect de l'hygiène (avec une majorité de très satisfaisant).

Il y a plus d'insatisfaits sur les horaires de respect des rendez-vous avec 12% de peu satisfaits et 55% de satisfaits.

#### *Rendu des résultats*

Le respect des délais dans le rendu des résultats est jugé satisfaisant par 98% des patients.

L'ensemble des personnes qui ont répondu au questionnaire considère que le compte-rendu est satisfaisant et très satisfaisant (présentation et clarté).

Sur l'interprétation des résultats, les patients sont en majorité satisfaits. Mais 6 d'entre eux sont peu satisfaits (5) voire insatisfaits (1). Les commentaires indiquent qu'il n'y a pas beaucoup d'explication et de communication avec le biologiste.

#### *Généralités*

Globalement, la prestation du laboratoire est jugée satisfaisante à 70%, très satisfaisante à 28 % et insatisfaisante à 2%.

Les patients viennent au CBC pour : la qualité du service (73%), le médecin (30%), l'accueil (10%), la proximité (2%), un proche (2%).

La majorité des répondants sont des femmes (70%) et presque la moitié des répondants ont entre 21 et 39 ans.

#### **Discussion et conclusion**

Même si le nombre de questionnaires est faible, dans l'ensemble, les résultats sont plutôt positifs pour le CBC.

En prenant en compte les commentaires et les résultats, il est possible de dégager des voies d'amélioration et les points forts.

Les points forts sont : la confidentialité, la prise en charge administrative, la propreté des locaux, la réalisation du prélèvement, le respect des règles d'hygiène, le délai de rendu des résultats, la présentation et la clarté du compte-rendu.

Les voies d'amélioration de la satisfaction des patients sont : les horaires d'ouverture du laboratoire, l'accueil téléphonique, l'attente avant l'enregistrement d'un dossier et le prélèvement, la gestion des files d'attentes, la signalétique, le respect des horaires des rendez-vous, l'interprétation des résultats et commentaires oraux des biologistes.

Les commentaires font également ressentir un besoin de sourire de la part des secrétaires.

#### **Annexe 2**

## **Mesure de la satisfaction du personnel du CBC par rapport à la démarche Qualité**

### **Introduction**

Dans le cadre de sa démarche Qualité, le CBC a procédé à l'évaluation de la satisfaction de son personnel par rapport à la démarche Qualité. Les objectifs étaient de :

- avoir la perception et la connaissance sur la démarche Qualité
- connaître les attentes du personnel
- prendre en compte les résultats pour recadrer le projet et adapter la façon de travailler.

### **Matériel et Méthode**

Les questionnaires en français ont été remis directement au personnel du CBC. La lecture des questions a été faite ensemble et les personnes ont majoritairement répondu individuellement (pour éviter des réponses de groupe). La période de questionnement s'est déroulée du lundi 13 septembre au mercredi 15 septembre. Il a été demandé au personnel de répondre en transparence et en toute honnêteté.

Les formulaires sont organisés en 5 grandes parties que sont le Management, la Main d'œuvre, le Milieu, la Méthode et le Matériel.

Les résultats ont été saisis et traités à l'aide du logiciel EPI Info, version 3.4.1.

### **Résultats/discussion**

- Nombre de questionnaires remis : 38
- Nombre de questionnaires reçus : 38
- Taux de retour : 100%

### **Management**

- Pour 23 répondants, la prestation du laboratoire s'est beaucoup améliorée. Ceux qui ont répondu "peu" travaillent au laboratoire depuis moins de un an (2 personnes) et moins de 3 ans (1 personne).

- Pour 95% des personnes, l'efficacité de leur travail s'est améliorée depuis 2 ans.

- Sur 38 sondés, 5 personnes disent que l'évolution du laboratoire est faiblement positive.

- Pour 92% des répondants, la démarche qualité répond à leurs attentes. Ce résultat est positif car la démarche qualité a été imposée au personnel du CBC.

- Les intérêts de la démarche qualité cités par le personnel sont multiples. Il est question d'amélioration, de résultats fiables, de satisfaction, de meilleure organisation, de meilleures conditions de travail, ... Tous les éléments cités sont à connotation positive.

- Les 38 répondants indiquent tous vouloir continuer la démarche qualité au CBC. Ce résultat montre l'évolution favorable des mentalités par rapport à 2009.

- Pour les retombées de la démarche, il ressort des

éléments positifs : amélioration des conditions de travail, de la prestation du laboratoire, l'accueil des patients, meilleure implication, ... mais aussi négatives : augmentation du volume de travail.

- A présent, les attentes du personnel sont de continuer cette amélioration notamment pour l'accueil téléphonique, la santé du personnel, la compétence du personnel... et obtenir l'accréditation.

#### **Main d'œuvre**

- Le niveau de connaissance pour accompagner le projet accréditation est jugé "suffisant" pour 25 personnes et "peu" pour 12 personnes. Sachant que le personnel n'a pas encore été formé de façon conventionnelle à la qualité, ces résultats sont plutôt positifs.

- Ces questions théoriques avaient pour objectif de déterminer le niveau de connaissance en qualité pour le personnel. Les réponses sont variées voire erronées, parfois justes. Il est parfois question des 6M ou du PDCA pour la politique qualité et la définition de la qualité est parfois loin de la notion de "satisfaction client". Une formation s'avère nécessaire mais il est intéressant de noter que certains concepts théoriques de la qualité ont été retenus par le personnel.

#### **Milieu**

- Pour presque la moitié des répondants, les locaux ne sont pas adaptés à leur travail. Ils sont trop chauds (accueil, bactériologie), trop étroits, ou inadaptés aux besoins.

Ces réponses sont à prendre en considération pour l'amélioration des conditions de travail du personnel.

- Pour 10 personnes, l'IPM prend peu de mesures pour limiter les risques d'accident et de maladie au travail. Les raisons données sont dans l'ordre du nombre de citations : manque de personnel et surcharge de travail, manque d'information sur les risques, ignorance des difficultés de pénibilité.

#### **Méthode**

- Pour 79% des personnes, la démarche qualité est très utile.

- Pour 86% ; elle est suffisamment efficace.

- Elle a beaucoup facilité le travail pour 10 personnes, suffisamment pour 24 personnes et peu pour 4 personnes.

- Pour 74% des répondants, le travail du service qualité est satisfaisant.

#### **Matériel**

- Sur l'ensemble, 6 personnes ont répondu qu'elles n'avaient pas le matériel nécessaire à leur travail.

- Les propositions pour améliorer le matériel (et réactif) sont : éviter les ruptures de stock de réactif, avoir un matériel suffisamment efficace (maintenance rigoureuse), avoir un courant électrique stable, nouvelle gestion des

consommables pour le ménage, améliorer le LACP.

#### **Commentaires**

Ils sont dans l'ensemble positifs.

Certains éléments sont à prendre en compte pour l'amélioration du CBC en plus de ceux cités précédemment :

- Formation continue

- Supprimer les écarts entre la théorie et la pratique

- Prendre en compte les aspects humains

- Visites de santé systématiques

- Aération à l'accueil.

#### **Conclusion**

Les résultats de cette enquête sont plutôt positifs et montrent l'évolution de la perception du personnel du CBC vis-à-vis de la qualité depuis quelques années. Il reste encore des améliorations à apporter sur les locaux et la prise en charge du personnel (formation, visites médicales). Cependant, l'enquête ne montre plus de frein majeur par rapport à la démarche qualité du laboratoire. Celle-ci peut alors continuer sachant que la quasi-majorité du personnel a compris les enjeux de la démarche et a déjà réalisé les impacts positifs

### **Annexe 3**

#### **Rapport Technique**

GONO/2010-09/ER/CBC/IPM

Résistance de *Neisseria gonorrhoeae* à la Ciprofloxacine observée au Centre de Biologie Clinique de l'IPM de janvier 2008 à août 2010 septembre 2010.

*Le présent rapport est établi en réponse à la lettre numéro 670-MSANP/SG/DGS/PNLS du 3 septembre 2010 du Ministère de la Santé Publique adressée à la Direction de l'Institut Pasteur de Madagascar. Il porte sur les données archivées de janvier 2008 à août 2010.*

#### **Contexte**

Les infections sexuellement transmissibles à *Neisseria gonorrhoeae* demeurent fréquemment rapportées à l'échelle mondiale. Ces infections sont habituellement traitées par des antibiotiques. A Madagascar, les fluoroquinolones deviennent le traitement de choix, mais l'émergence et la dissémination des souches de *N. gonorrhoeae* résistantes à ces molécules est alarmante. Ainsi, il est impératif de surveiller constamment la résistance/sensibilité de *N. gonorrhoeae* aux antibiotiques communément utilisés afin d'adapter *in fine* les schémas thérapeutiques sur des bases factuelles.

#### **Objectifs**

Déterminer la fréquence des souches de *N. gonorrhoeae* résistante à la Ciprofloxacine parmi les souches isolées au CBC de l'IPM et actualiser les con-

naissances sur les niveaux de résistance vis-à-vis des autres antibiotiques

### Méthodologie

**Souches de *N. gonorrhoeae*** : Toutes les souches de *N. gonorrhoeae* isolées au CBC ont été incluses dans cette observation. Elles provenaient des patients vus au CBC pour un prélèvement génital (endocol, urétral, vulvaire) ou pour une demande de spermoculture.

**Prélèvement** : Les prélèvements ont été effectués au CBC selon les recommandations du Référentiel en microbiologie médicale (REMIC 3<sup>ème</sup> Edition 2007).

**Ensemencement et Identification** : Après ensemencement sur gélose chocolat avec un mélange d'antibiotiques sélectifs, les géloses étaient incubées 18 à 24 h à 37°C en atmosphère contenant 5% de CO<sub>2</sub>. L'identification des souches était réalisée après coloration de gram, recherche de l'oxydase et acidification du seul glucose sur galerie commerciale. La recherche de bêta lactamase était faite sur les colonies à l'aide d'une méthode chromogénique. Chaque souche étaient conservée congelée à -80°C dans du bouillon nutritif spécifique.

**Antibiogramme** : L'antibiogramme a été réalisé sur toutes les souches isolées par la technique de diffusion sur gélose chocolat PolyViteX (Recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de la Microbiologie CASFM réactualisées tous les ans). La lecture a été effectuée par mesure des diamètres d'inhibition au pied à coulisse après 18-24 h d'incubation à 35-37°C en atmosphère contenant 5% de CO<sub>2</sub>, et, si la croissance est insuffisante, après 36-40h.

Tableau I : Liste des antibiotiques testés

Antibiotique	Charge
Pénicilline G (PG)	6 µg
Ceftriaxone (CRO)	30 µg
Tétracycline (TE)	30 UI
Acide nalidixique (NA)	30 µg
Spectinomycine (SPE)	100 µg
Chloramphénicol (C)	30 µg
Erythromycine (E)	15 UI

**Détermination des CMI de la Ciprofloxacine** : La CMI de la Ciprofloxacine a été déterminée pour toutes les souches de *N. gonorrhoeae* présentant un diamètre d'inhibition ≥ 25mm autour du disque d'Acide nalidixique par la méthode de diffusion en milieu gélosé utilisant la **technique de E-test®**. Après incubation de 18 h à 37°C, une ellipse d'inhibition symétrique centrée le long de la bandelette se forme. La CMI correspond à la concentration d'antibiotique lisible au point où l'ellipse croise la bandelette.

### Résultats et discussion

De janvier 2008 à août 2010, 62 souches de *N. gonorrhoeae* ont été isolées au CBC. Elles provenaient

de 34 prélèvements d'endocol, 2 prélèvements vulvaires, 25 prélèvements urétraux et 1 prélèvement de spermoculture. Les résultats des antibiogrammes sont résumés dans le tableau II.

Sur les 62 souches : **52 (83% - IC95% = [72,3-92,0])** ont un diamètre supérieur à 25 mm au disque d'Acide nalidixique à 30 µg. La distribution des CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub>, et de la moyenne géométrique des CMI de la Ciprofloxacine est la suivante :

- Rang : **0,002 – 3 mg/L** - CMI<sub>50</sub> : **0,38 mg/L**
- CMI<sub>90</sub> : **1,5 mg/L** - CMI<sub>moyenne</sub> : **0,66 mg/L**

Quoique informative, notre étude présente une certaine limite car le recrutement pourrait être biaisé du fait qu'il s'agissait seulement des patients se présentant à notre laboratoire. Cependant, elle nous permet de parler de l'existence effective d'une résistance élevée aux quinolones des souches de *N. gonorrhoeae* collectées au CBC. En effet, un diamètre ≥ 25mm autour du disque d'Acide nalidixique permet de prédire une sensibilité diminuée ou une résistance aux fluoroquinolones, et c'est la détermination des CMI de la Ciprofloxacine (ou de l'Ofloxacine) qui donne la confirmation. Une revue de littérature récente montre que le taux des **succès thérapeutiques** avec des doses uniques de Ciprofloxacine dans les infections urogénitales non compliquées varie de 90 à 100% pour des CMI ≤ 0,06 mg/L à environ 80% pour des CMI de 0,125-0,5mg/L et 30% pour des CMI > 0,5mg/L.

Tableau II : Sensibilité de *N.gonorrhoeae* isolées au Centre de Biologie Clinique aux antibiotiques

		2008 n (%)	2009 n (%)	2010 n (%)
<b>NA</b>	S	4 (19,0)	3 (15,8)	3 (13,6)
	I	0	0	0
	R	17 (81,0)	16 (84,2)	19 (86,4)
<b>PG*</b>	S	2 (9,5)	0	2 (9,1)
	I	0	2 (11,1)	1 (4,5)
	R	19 (90,5)	16 (88,9)	19 (86,4)
<b>CRO</b>	S	21 (100)	19 (100)	22 (100)
	I	0	0	0
	R	0	0	0
<b>TE</b>	S	2 (9,5)	7 (36,8)	4 (18,2)
	I	0	0	0
	R	19 (90,5)	12 (63,2)	18 (81,8)
<b>E</b>	S	21 (100)	19 (100)	22 (100)
	I	0	0	0
	R	0	0	0
<b>C</b>	S	21 (100)	19 (100)	22 (100)
	I	0	0	0
	R	0	0	0
<b>SPE</b>	S	20 (95,2)	19 (100)	22 (100)
	I	0	0	0
	R	1 (4,8)	0	0

PG\* : 1 souche n'a pas été testée par la Pénicilline G  
S : sensible, I : intermédiaire, R : résistant

A Madagascar, la dernière publication concernant l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *N. gonorrhoeae* datait du 2006 (V Cao, E Ratsima *et al.* Sexually transmitted diseases 2008; **35** : 941-945). Au cours de cette étude, la moyenne géométrique des CMI de la Ciprofloxacine était de 0,066 avec CMI<sub>50</sub> à 0,004 et CMI<sub>90</sub> à 0,06.

**Conclusion**, l'évolution de la résistance aux fluoroquinolones des souches de *N. gonorrhoeae* collectées au CBC impose une surveillance constante et régulière dans tout Madagascar afin d'adapter les schémas thérapeutiques utilisés.

## LABORATOIRE D'ANATOMIE ET DE CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES (LACP)

### Introduction

Les activités du laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques (LACP) sont surtout des activités de service. Comme la technique de l'immunohistochimie n'est pas encore mise en oeuvre dans le laboratoire, le LACP collabore pour les cas difficiles (demandes d'avis et d'étude immunohistochimique) avec quelques laboratoires d'Ile de France, plus particulièrement avec les laboratoires d'anatomopathologie des hôpitaux : Henri Mondor, Lariboisière, Saint-Antoine, Hôtel Dieu et Louis Mourier; de l'Institut Pasteur à Paris, des centres de Tours et de Bergonié. Le nombre de demandes augmente tous les ans.

Tableau I : Répartition du temps de travail selon les 4 missions pasteuriennees

Type d'activité	Nature	% annuel de temps
Activité de service	<ul style="list-style-type: none"> <li>Lecture des lames d'examens Anatomopathologiques et cytologiques</li> <li>Rédaction d'articles</li> <li>Tour de permanence au service antirabique</li> </ul>	70
Assurance Qualité	<ul style="list-style-type: none"> <li>Rédaction de procédures et modes opératoires</li> </ul>	5
Activité de santé publique	<ul style="list-style-type: none"> <li>Projet de Recherche sur la bilharziose génitale chez la femme. Recherche d'œufs de <i>Schistosoma haematobium</i> sur FCU</li> <li>préparation de posters y afférents</li> <li>Réunions ministérielles et avec les ONG</li> </ul>	20
Encadrement/ Formation	<ul style="list-style-type: none"> <li>Encadrement et supervision d'un médecin sur la lecture des lames de FCU</li> <li>Encadrement de deux techniciens de laboratoire</li> </ul>	5

Le LACP a également participé à des activités de santé publique et de formation.

Le LACP de l'IPM est reconnu sur le plan national et est très sollicité par les cliniciens travaillant dans les

différents hôpitaux publics ou privés, surtout pour les frottis cervicaux utérins. Pour les examens anatomopathologiques, le LACP collabore avec les pathologistes locaux pour les discussions des cas difficiles. Une réunion hebdomadaire de présentation de cas a été instituée à Antananarivo. Le tableau I représente les activités du LACP durant l'année.

### Activités de service

Figure 1 : Evolution des activités globales du laboratoire en 5 ans

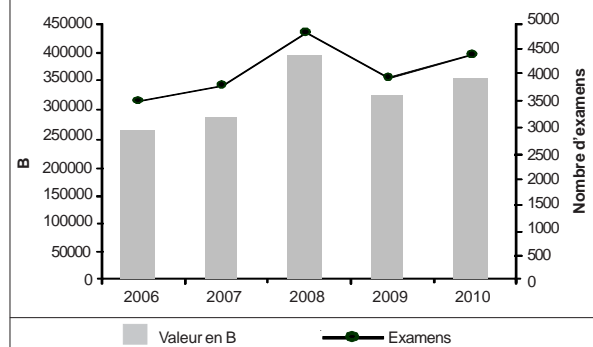


Tableau II : Distribution des clientèles du LACP selon le nombre de demandes, le nombre de B et les chiffres d'affaire

Type de clientèles	Demandes	B	CA
Particuliers	69%	72%	62%
Fonctionnaires	12%	12%	15%
Sociétés / Assurés	16%	14%	20%
Personnel IPM / Etude bilharziose génitale	3%	2%	3%
<b>Total</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>

CA : chiffres d'affaire

En 2010, les activités du LACP ont légèrement augmenté par rapport à l'année précédente : 343 010 B vs 319 870 B en 2009 (voir figure 1), soit une augmentation de 7,23%. Cette augmentation aurait pût être plus importante, mais le non-paiement par l'Etat malagasy des arriérés des frais d'analyses des malades fonctionnaires, une partie non négligeable de la clientèle (tableau II), a entraîné le refus des prises en charges de ces derniers par la Direction de l'IPM en avril jusqu'au mois de novembre. Cette situation a entraîné une diminution du nombre de demandes d'examen de tous les secteurs du CBC dont le LACP. Cette baisse était surtout notable au mois de mai et au mois de novembre. L'acceptation des prises en charge des fonctionnaires a repris vers le mois de novembre. En cas d'absence (congrés, missions ou autres...), le responsable du LACP est remplacé par un pathologiste vacataire. Ce dernier assure tous les examens anatomopathologiques et ceux des liquides divers. Le Dr N Rakotonahary assure la lecture de tous les frottis cervicaux utérins.

Tableau III : Répartition des activités de service du LACP en 2010

Type d'examen	Nb examens	B	%
Histopathologique	1 187	141 670	41,36
Frottis cervicaux utérins	2 726	163 560	47,74
Liquide divers, crachats	252	28 600	8,35
Cytoponction	49	5 880	1,72
Cytologie hormonale	13	2 860	0,83
<b>Total</b>	<b>4227</b>	<b>342 570</b>	<b>100</b>

### Examens anatomopathologiques

Parmi les 1 187 examens anatomopathologiques réalisés durant l'année, la pathologie tumorale représentait 33,5% (398 cas) des diagnostics. Les lésions cancéreuses ont été observées sur plus de la moitié de la pathologie tumorale, elles représentent 227 cas. La première localisation de ces cancers, tout âge et sexe confondu est l'appareil digestif (67 cas), suivi par le sein (46 cas) et le col utérin (37 cas). Le reste est réparti de façon très disparate. Les cas difficiles ont fait l'objet de discussions avec les autres pathologistes malgaches ou envoyés en France pour avis et étude immunohistochimique. Pour l'année 2010, 58 cas ont fait l'objet de demandes d'expertises dans les différents laboratoires en France dont 28 cancers du sein. Des blocs d'échantillon en paraffine nous sont parvenus pour étude immunohistochimique.

### Frottis cervicaux utérins (FCU)

Ils représentent presque la moitié du recrutement (tableau III). 97% des prélèvements sont faits à l'IPM par le Dr N Rakotonanahary et une sage-femme. La classification de Bethesda 2001 a été utilisée pour les comptes rendus.

Sur 2 726 FCU, Les frottis anormaux incluant les lésions malpighiennes intraépithéliales de bas grade (LSIL), les atypies indéterminées (ASC-US), les lésions malpighiennes de haut grade (HSIL), les carcinomes *in situ* et les atypies des cellules malpighiennes n'excluant pas une lésion de haut grade représentent 5% des frottis (112 cas). Les frottis cancéreux ont été diagnostiqués dans 15 cas et les atypies des cellules glandulaires dans 9 cas. Les frottis normaux représentent 60,4% des cas, les frottis inflammatoires et les autres lésions dystrophiques font 34,6%.

### Cytoponction / cytologie diverse

En tout, les examens de liquides sont au nombre de 360 (tableau III). Ils comprennent des liquides de lavage bronchio-alvéolaire (102 cas), les liquides d'épanchements pleuraux (73 cas), des liquides d'ascites (40 cas), des liquides de cytoponction mammaire (33 cas) et d'autres liquides divers (112 cas).

## Activités de Santé Publique

### Etude sur la Bilharziose génitale chez la femme

La bilharziose génitale constitue un problème de santé publique chez les femmes vivant dans les régions d'hyperendémicité bilharzienne à Madagascar. Plusieurs études ont été faites sur ce sujet depuis 1999. En 2010, le LACP a participé à un projet de recherche sur la bilharziose génitale chez des femmes vivant dans une région d'hyperendémicité bilharzienne à *Schistosoma haematobium* (*Sh*) dans le Moyen-Ouest de Madagascar (Miandrivazo) de juin à juillet 2010.

**Objectif principal :** C'est une étude cas-témoin dont le but est d'identifier et de valider des méthodes de diagnostic direct de la bilharziose génitale chez la femme, de développer des méthodes non invasives, peu coûteuses et acceptables pour les femmes et applicables sur le terrain. Plusieurs méthodes ont été appliquées, mais pour ma part, mon rôle est de rechercher des œufs de *Sh* sur des frottis cervicaux utérins (FCU).

**Participants :** Cette étude a été réalisée en collaboration avec l'IPM, le CSB2 Miandrivazo, Ministère de la Santé, Danish Bilharziasis Laboratory (DBL)- Centre de recherche en santé et le développement, à Copenhague, Danemark, l'Unité de recherche de l'Hôpital Sorlandet Hf, l'Université d'Agder, Kristiansand, en Norvège, l'Hôpital universitaire Skejby, Aarhus, Danemark et l'Hôpital universitaire d'Oslo, Oslo, Norvège.

**Financement :** Danish Bilharziasis Laboratory DBL – Centre for International Health Research and Development- Faculty of Life Sciences, Denmark

### Méthodologie

- Village d'étude et critères d'inclusion : femmes âgées de 15 à 35 ans, ayant un taux de prévalence urinaire de *Sh* > 50 œufs pour 10 ml, vivant dans les sites pendant au moins 5 ans et n'ayant reçu aucun traitement anti-bilharzien

- Village témoin : femmes ayant un taux de prévalence urinaire de *Sh* < 20 œufs pour 10 ml

- Frottis de l'exocol réalisé avec la spatule d'Ayre et frottis de l'endocol avec une cytobrosse.

### Résultats

- Frottis examinés : 121 dont 81 femmes pour le site d'étude et 40 femmes pour le village témoin.

- Pour faciliter l'évaluation du nombre d'œufs trouvés sur les frottis, les scores suivants ont été adoptés :

Score 0 : 0 œuf ;                      Score 1 : 1 à 4 œufs ;  
 Score 2 : 5 à 9 œufs ;              Score 3 : 10 à 19 œufs  
 Score 4 : 20 à 30 œufs ;          Score 5 : >30 œufs



Tableau IV : Distribution des scores d'œufs de *Sh* dans les sites et le village témoin

Village	S0	S1	S2	S3	S	S5	Total
Sites	40	26	7	5	1	2	81
Témoin	35	3	1	1	0	0	40
<b>Total</b>	<b>76</b>	<b>29</b>	<b>8</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>121</b>

Tableau V : Distribution des scores d'œufs de *Sh* selon les résultats cytologiques des FCU

	FCU	S0	S1	S2	S3	S4	S5	Total
<b>Sites</b>	FN	25	19	5	3	0	0	52
	FI	13	7	2	2	1	2	27
	LSIL	2	0	0	0	0	0	2
<b>Témoin</b>	FN	35	3	1	1	0	0	40
	FI	0	0	0	0	0	0	0
	LSIL	0	0	0	0	0	0	0

S : score; FN : frottis normaux ; FI : frottis inflammatoires ; LSIL : lésion malpighienne intra-épithéliale de bas grade

### Discussion et conclusion

- Sans tenir compte du nombre d'œufs trouvés sur les frottis, 50,6% des femmes (41/81) avec un taux de prévalence urinaire >50 œufs/10 ml présentent des œufs sur leur FCU. Pour celles qui ont un taux de prévalence urinaire <20 œufs/10 ml, 12,5% (5/40) des frottis sont positifs.

- La présence d'œufs est plus importante sur les frottis normaux chez les femmes à taux de prévalence urinaire >50 œufs/10 ml (33,3%) vs 17,3% pour les frottis inflammatoires.

En conclusion, les femmes vivant dans les zones hyperendémiques à *Sh* sont plus exposées à une localisation génitale de la maladie. La présence d'œufs ne dépend pas de l'état du col utérin. L'inflammation est probablement associée à la bilharziose génitale mais non pas la conséquence de la présence d'œufs de *Sh*. Les FCU constituent une méthode non invasive et efficace pour diagnostiquer une bilharziose génitale chez la femme.

### Assurance qualité

- Rédaction et validation par la Cellule qualité du premier mode opératoire pour la transmission des lames et/ou blocs à l'extérieur de LACP.

- Rédaction et validation par la Cellule qualité de la procédure de remplacement du médecin responsable de LACP.

- Rédaction du deuxième mode opératoire (rectificatif) pour la transmission des lames et/ou blocs à l'extérieur de LACP.

- Supervision du rangement et de l'organisation des archives, du respect des règles d'hygiène et du respect de la démarche qualité.

### Conclusion générale et perspectives

L'activité de service du LACP a bien commencé durant les trois premiers mois de l'année 2010. Seulement le non paiement des arriérés des frais d'analyses des fonctionnaires, catégorie non négligeable de la clientèle, par l'Etat Malagasy a entraîné une baisse des activités. Malgré cela et par rapport à l'année 2009, cette activité a augmenté.

La pratique de l'immunohistochimie sera vraiment un atout pour le LACP car actuellement, beaucoup de médecins et mes collègues pathologistes sollicitent le LACP dans ce domaine. Tous les cancers du sein diagnostiqués ont fait l'objet de demandes à l'extérieur pour étude de récepteurs hormonaux et de Her2neu. Pour limiter les envois à l'extérieur et pour raccourcir le délai des rendus de résultats, un projet de formation de la technicienne du LACP en technique d'immunohistochimie est prévu en 2012.

En perspective pour l'année 2011, le LACP va collaborer avec l'équipe de l'IP du Sénégal (S Breurec) et l'équipe de l'IMATIMUP (J Machado) pour réaliser une étude sur la diversité génétique de l'Hôte et de la bactérie dans les infections à *Helicobacter pylori*. Le LACP sera le coordinateur local de ce projet à Madagascar.

Le projet de recherche sur le typage du virus HPV (*Human Papillomavirus*) sur des biopsies de cancer du col utérin sera également soumis cette année en projet interne avec la collaboration de l'Unité de Virologie de l'Institut Pasteur de Madagascar.

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

Le maintien de l'accréditation du laboratoire d'hygiène des aliments et de l'environnement (LHAE) par le COFRAC a été prononcé en décembre 2010 suite à l'audit de surveillance qui s'est déroulé au mois de novembre de la même année. Actuellement, 13 méthodes figurent sur la portée d'accréditation du laboratoire pour l'analyse microbiologique des denrées alimentaires et 11 méthodes pour l'analyse microbiologique des eaux. A l'issue de cet audit, l'un des faits marquants dans l'amélioration de la qualité au LHAE, a été l'ajout des méthodes de recherche des légionelles et de dénombrement d'*Escherichia coli* et des entérocoques intestinaux (méthode miniaturisée) à portée d'accréditation.

L'activité globale du LHAE a subi une baisse drastique depuis 2006 d'abord, du fait de la révision des plans d'échantillonnage des produits de la mer destinés à l'exportation pour les contrôles officiels puis, des paramètres microbiologiques à contrôler par l'Autorité Sanitaire halieutique. La proportion des analyses des produits de la mer est passée de 65% à 30% entre 2006 et 2010. A contrario la proportion des analyses d'eaux est restée relativement stable avec une reprise en 2010 et occupe la première place (46%). Cette situation confirme clairement la nécessité d'une diversification et d'actions d'information dans les domaines du conseil, de l'audit et de la formation vers les industries agro-alimentaires et des structures de l'hôtellerie-restauration. Une journée " portes ouvertes " organisée avec une présentation des activités et la diffusion de plaquettes semble avoir amorcé un développement dans ce secteur. Une stratégie de fidélisation par la conclusion de contrats de prestations est également développée.

## Activité globale d'analyses

La figure 1 montre la diminution continue des activités d'analyses du laboratoire notamment dans la catégorie des produits de la mer (PDM).

Le tableau I décrit la nette régression des PDM dans la part du marché du LHAE. Cette catégorie de produits n'occupe plus la première place (30% en 2010 vs 42,5% en 2009) au profit de l'eau (46,3% vs 36,6%).

Figure 1 : Evolution de l'activité du laboratoire (2006-2010)

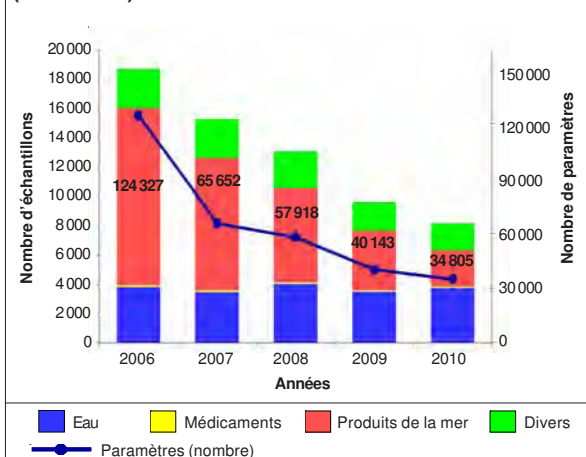


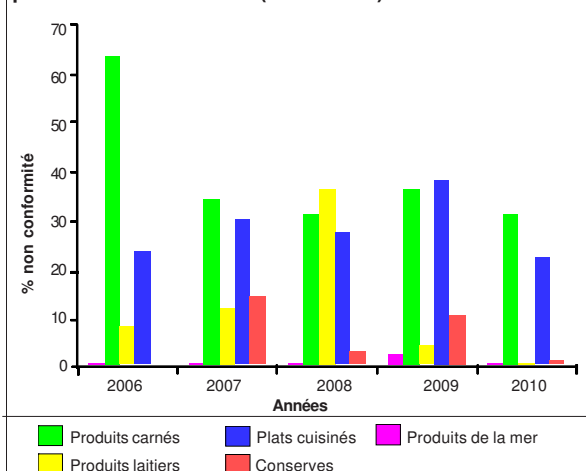
Tableau I : Répartition des analyses par catégorie et évolution entre 2009 et 2010

Produits	Nb échantillons (%)		Evolution 2009 - 2010
	2009	2010	
Produits de la mer	4 127 (42,5%)	2 463 (30%)	- 40,3%
Aliments divers	881 (9,1%)	723 (8,8%)	- 18%
Eaux	3 549 (36,6%)	3 793 (46,3%)	+ 6,4%
Cosmétique	85 (0,9%)	73 (0,9%)	- 4,8%
Hygiène	1 063 (11%)	1 128 (13,8%)	+ 6,1%
<b>Total</b>	<b>9 705 (100%)</b>	<b>8 185 (100%)</b>	<b>- 15,1%</b>

## 1. Analyses des aliments

La figure 2 montre une nette différence des taux de non-conformité des aliments selon leur catégorie.

Figure 2 : Taux de non-conformité par catégorie de produits alimentaires (2006-2010)



### • Produits de la mer (PDM)

Plus de 8 700 paramètres ont été examinés à partir des 2 463 échantillons de PDM provenant quasiment tous, des établissements agréés pour l'exportation vers l'Union Européenne. Ces produits restent globalement de qualité bactériologique satisfaisante avec 0,6% d'échantillons non conformes. Deux lots de produits de la mer étaient contaminés par *Vibrio parahaemolyticus* pathogènes.

### • Produits alimentaires divers

Ce sont essentiellement des produits alimentaires issus de la grande distribution. Une part non négligeable de produits divers se dégage depuis 2009 (épices, arachides, vanille...).

Tableau II : Taux de non-conformité par catégorie de produits

Produits	% de non conformité	
	2009	2010
<b>Produits carnés</b>	30/83 (36,1%)	40/126 (31,7%)
<b>Produits laitiers et dérivés</b>	3/67 (4,5%)	1/22 (4,5%)
<b>Plats cuisinés</b>	54/141 (38,3%)	30/126 (24,8%)
<b>Conserves</b>	4/40 (10%)	4/54 (7%)

La qualité microbiologique des produits agro-alimentaires autres que les produits de la mer est encore loin d'être satisfaisante. Toutefois, une amélioration sensible est observée pour les plats cuisinés. Les programmes d'accompagnement des entreprises par notre conseillère qualité pourraient entrer en ligne de compte, les plats cuisinés analysés entrant pour la plupart dans ce cadre. Ainsi, le pourcentage d'échantillons non conformes est passé de 38,3% en 2009 à 24,8% en 2010 pour cette catégorie de produits.

Le taux globalement élevé de non-conformité des denrées alimentaires autres que les produits de la mer destinés à l'export (tableau II) est probablement lié aux difficultés des clients du laboratoire pour se fournir en matières premières de qualité en l'absence de réglementation nationale sur la sécurité alimentaire. Il y a un manque de sensibilisation aux problèmes d'hygiène en plus du problème le plus commun du respect de la chaîne de froid lors du transport.

### Analyses d'eaux

Hormis l'eau du réseau de distribution de la JIRAMA, la qualité des eaux analysées au laboratoire est médiocre.

### - Eaux d'adduction : Antananarivo et les principales villes de province de Madagascar

Distribuée par la JIRAMA, société d'exploitation industrielle de l'eau et de l'électricité, la qualité microbiologique de l'eau avait subi une forte dégradation en 2009 avec un taux de 23% d'échantillons d'eaux analysées non potables contre 5,6 % en 2008. Une amélioration de la qualité de l'eau est observée en 2010 avec un taux de non potabilité de 4,4% (tableau III).

Tableau III : Taux de non potabilité des eaux d'adduction

Ville	% d'échantillons d'eau non potable		
	2008	2009	2010
Antananarivo	65/1068 (6%)	140/490 (28%)	37/825 (4,4%)
Antsiranana	3/125 (2,4%)	27/106 (25%)	2/101 (1,9%)
Fianarantsoa	9/150 (6%)	24/154 (16%)	3/154 (1,9%)
Mahajanga	16/138 (11,5%)	23/112 (21%)	5/132 (3,7%)
Toamasina	12 /172 (7%)	26/145 (18%)	5/163 (3%)
Toliary	6/326 (2%)	45/210 (21%)	19/225 (8,4%)
<b>Total</b>	<b>111/1979 (5,8%)</b>	<b>285/1217 (23%)</b>	<b>71/1600 (4,4%)</b>

### - Eaux de baignade

Ces analyses concernent les eaux de piscine de la zone urbaine et suburbaine d'Antananarivo (hôtels et centres de loisirs). La qualité de ces eaux s'est peu améliorée (25% en 2009 vs 20% en 2010).

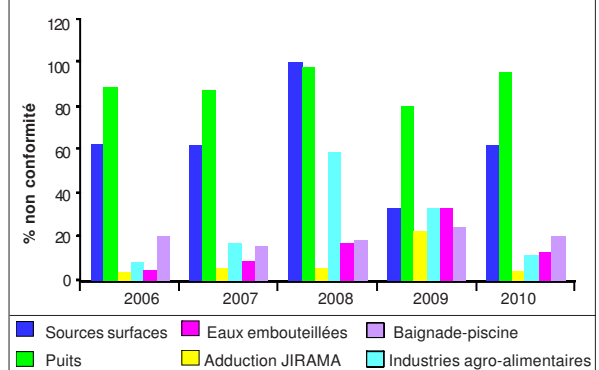
### - Eaux brutes non traitées

La qualité de celles-ci (eaux de puits, de surface et de source) constitue un problème de santé publique à Madagascar avec un taux de non-conformité avoisinant constamment 100%. Elles sont fortement contaminées par une flore le plus souvent d'origine fécale alors qu'elles sont souvent consommées par la population (figure 3).

### - Eaux et glaces des établissements industriels

La qualité des eaux à usage industriel analysée en 2010 s'est nettement dégradée avec un taux de non-conformité de 37,5% vs 11,9% en 2009.

Figure 3 : Taux de non-conformité des eaux analysées



## Sérotypage des salmonelles

Dans le cadre de ses activités de Centre National de Référence des Salmonelles, Shigelles et Vibrio (Centre de Biologie Clinique/LHAE/Unité d'Epidémiologie), le LHAE a sérotypé 11 souches de salmonelles. Les sérovars, le nombre de souches et leur origine figurent dans le tableau IV.

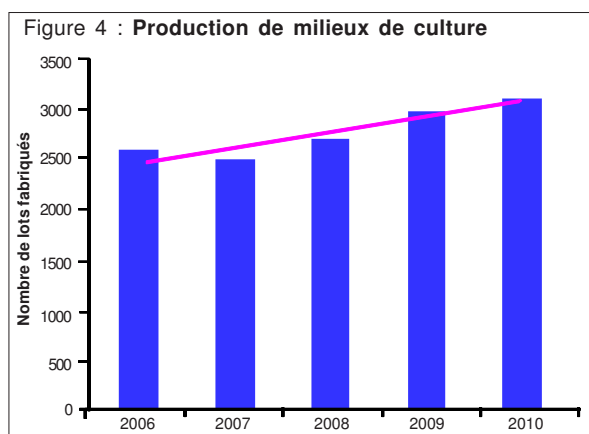
Tableau IV : Sérotypes et origine des souches de *Salmonella* isolées en 2010

LHAE			CBC		
Sérovar	Nb	Aliments incriminés	Sérovar	Nb	Source
Enteritidis	1	Plat cuisiné	Typhi	3	hémoculture
OMD, HMC 1 y, 1,5	1	Farine de poisson	Typhi	1	ECBU
			Enteridis	1	coproculture
			Enteridis	1	pus
			Enteridis	1	Liquide d'ascite
			Newport	1	urines
			Typhimurium	1	hémoculture

Ces résultats sont enregistrés dans la base de données du GSS / OMS.

## Production des milieux de culture

Le laboratoire dispose d'une unité de production des milieux de culture qui assure les besoins du laboratoire ainsi que ceux de quatre autres laboratoires de l'IPM depuis 2008 : LES, CBC, Unité de la Peste, Unité des Mycobactéries.



## Activités de conseil-audit-formation

Des actions de communication sous forme de journées portes ouvertes et de diffusion de plaquettes décrivant les offres de services du LHAE ont été conduites en 2010. Elles ont accueilli entre 120-150 personnes et permis de recueillir les demandes des visiteurs parmi lesquelles figurent l'analyse physico-chimique de l'eau, la chimie alimentaire, le dosage des aflatoxines et la recherche des allergènes.

Les activités d'audit-conseil-formation touchent principalement le domaine de l'hygiène. Encore modestes, elles sont passées de 6 à 11 en formation aux bonnes pratiques de l'hygiène des personnels et de 3 à 14 en audit des installations des industries agro-alimentaires et de la grande distribution entre 2009 à 2010.

Ces activités mériteraient d'être développées et étendues aux autres villes de Madagascar et aux sites touristiques comme Nosy Be et Sainte Marie.

## Développement et validation de méthodes

En 2010, le LHAE a mis en place 2 nouvelles lignes d'analyse : la recherche et le dosage des aflatoxines par technique ELISA et la recherche des légionelles dans l'eau. Ce dernier type d'examen ainsi que le dénombrement des *Escherichia coli* et des entérocoques intestinaux par méthode miniaturisée ont été accrédités par le COFRAC en décembre 2010. En conséquence, il est raisonnable de penser que cette activité devrait se maintenir sinon se développer.

Par ailleurs, au cours du premier trimestre, une étude comparative de 2 méthodes de recherche de *Vibrio* potentiellement entéropathogènes a été entreprise avec la collaboration du Laboratoire d'Epidémiologie-Surveillance des pathologies de la crevette (LES). 109 échantillons ont été analysés de manière prospective avec la méthode interne (enrichissement, isolement sur gélose chromogène CHROMagar *Vibrio*, identification phénotypique succincte et confirmation d'espèce par PCR) et la méthode dite provisoire du CNRVC/AFSSA/ESPR (enrichissement, isolement sur TCBS, identification morphologique et biochimique complète avec API20E et confirmation d'espèce par PCR). La méthode interne a permis de détecter la présence de *Vibrio parahaemolyticus* pathogènes dans 2 lots de produits de la mer. Ce dernier paramètre ne fait plus partie des critères officiels de contrôle pour l'exportation des produits de la mer. Un plan national de surveillance de vibrios entéropathogènes a été instauré pour être mis en application en 2011.

## Perspectives

Dans le souci de compléter sa gamme d'analyses, le LHAE mettra en place un laboratoire de physicochimie de l'eau à moyen terme.

Une démarche active auprès des industries alimentaires et du tourisme pour mieux faire connaître nos offres de service tant dans le domaine des analyses que du conseil-audit-formation en hygiène est engagée.

# Laboratoire d'Epidémiologie-Surveillance des pathologies de la crevette (LES)

## Introduction

Le Laboratoire d'Epidémiologie-Surveillance des pathologies de la crevette (LES) a été créé pour renforcer le dispositif de surveillance sanitaire de la production crevettière de Madagascar, une des principales sources de devises du pays, grâce à un financement de l'Agence Française de Développement (AFD). Opérationnelle en 2008, la plateforme de haut niveau technique, dispose d'un large panel de tests de diagnostic basés sur l'histopathologie, la microbiologie classique et la biologie moléculaire (PCR conventionnelle, PCR temps réel) pour répondre aux objectifs du projet (i) diagnostic et surveillance zoo-sanitaire des maladies de la crevette et (ii) formation des partenaires, pour un développement durable de la filière.

La gestion informatique des analyses est réalisée avec le logiciel Hexalis après un long travail de paramétrage depuis mai 2009. La finalisation de l'assurance qualité au LES est activement conduite avec la collaboration du service qualité de l'IPM sous le référentiel "Norme de qualité et lignes directrices de l'Office International des Epizooties (OIE) applicables aux laboratoires vétérinaires : maladies infectieuses (OIE, 2008)". La validation des compétences du laboratoire au diagnostic par PCR des maladies listées par l'OIE est effectuée deux fois par an en participant avec succès aux tests inter-laboratoires.

En 2010, le LES a poursuivi sa mission d'appui à l'Autorité Sanitaire Halieutique (ASH) pour l'établissement du statut zoo-sanitaire de Madagascar vis-à-vis de 3 maladies répertoriées à l'OIE en collaborant à la préparation du Plan National de Surveillance (PNS) et à deux campagnes de prélèvements des échantillons. Il s'agit de la maladie des points blancs ou White Spot Syndrome Disease (WSSD), la maladie de la tête jaune ou Yellow Head Disease (YHV) et le Syndrome de Taura ou Taura Syndrome (TSV). Le PNS a subi plusieurs reports pour des raisons institutionnelles et politiques. Toutefois, la promulgation de deux arrêtés consécutifs par le Ministère de l'Elevage les 13 et 17 septembre 2010, l'un relatif à la police sanitaire des crustacés et des produits qui en sont issus (Arrêté N° 33.423/2010) et l'autre désignant le LES Laboratoire officiel d'épidémiologie-surveillance des animaux aquatiques à Madagascar (Arrêté N°33.424/2010) constitue une avancée significative. Elle a permis d'engager la procédure de marché de gré à gré entre l'ASH et l'IPM pour la réalisation des

analyses. La liste des méthodes de dépistage et de confirmation à utiliser pour la réalisation du PNS a été définie et sera consignée dans la convention d'exécution du marché.

Concernant les activités de diagnostic, seuls 3 opérateurs ont fait appel au LES alors que la pérennisation du LES était fondée sur des volumes d'analyses. La situation est paradoxale, le groupement des aquaculteurs étant co-initiateur du projet avec l'Etat Malgache pour faire face aux besoins en analyses. Cette situation était perçue assez rapidement et débattue lors des réunions du comité de pilotage du projet. En effet, le niveau d'engagement des partenaires privés *via* le plan national de surveillance est insuffisant pour assurer la pérennisation financière du LES. Cela a été constaté lors de la réunion du comité de pilotage de clôture du projet en décembre 2010. Compte-tenu de tous les éléments analysés (simulation de business plan, diversification, engagement de l'Etat, désengagement des partenaires privés), le rapport de fin d'exécution de projet remis en avril 2011 au bailleur de fonds et à l'Etat Malgache mentionne dans sa conclusion :

*"l'IPM estime que la recherche et l'investigation en santé alimentaire et environnementale, indépendante des filières de production ou de commercialisation, pourrait constituer une nouvelle voie de développement de l'activité du LES, en parallèle à l'activité de laboratoire officiel. Des programmes de recherche en santé et environnement pourraient être ainsi développés et soumis à des bailleurs de fonds, le LES disposant d'infrastructures, d'équipement et de personnel compétents et respectant des standards élevés d'assurance qualité. (.....). L'IPM, sur ces bases, remplirait à la fois ses missions de recherche et d'appui à la santé publique et au développement économique de Madagascar. Il reste cohérent dans sa stratégie d'établissement et dans l'investissement qu'il a apporté à l'élaboration de ce projet en mettant à disposition des locaux et ses services communs".*

En 2009, le LES a démarré une activité de service au profit du Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement pour la confirmation d'espèce et la recherche de gènes de facteurs de pathogénicité des vibrios (*Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio cholerae* notamment) dans les produits de la mer qu'il a poursuivi en 2010. Le LES collabore avec le LHAE à l'évaluation d'une méthode alternative pour la détection de ces pathogènes.

## Activités de diagnostic et d'expertise

### • En pathologie des crevettes

Les premières activités d'expertise du LES ont révélé dans un élevage de Madagascar, la présence de *Vibrio nigripulchritudo* chez la crevette tigrée *Penaeus monodon*, pathogène connu en Nouvelle-Calédonie chez la crevette bleue *P. stylirostris* et au Japon chez la crevette "kuruma" *P. japonicus*. L'isolement de cette bactérie était associé à la présence de lésions évocatrices de vibriose systémique dans un contexte de diagnostic différentiel négatif vis-à-vis de YHV-GAV (Yellow Head Virus-Gill Associated Virus) et IHNV (Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus). Des techniques de caractérisation phénotypique et moléculaire (PCR et séquençage partiel du gène *gyrB*) de ces premières souches ont été mises en œuvre. L'identification a été confirmée par MLST (MultiLocus Sequence Typing) par F Leroux : Unité de Plasticité du génome Bactérien, D Mazel : Institut Pasteur à Paris.

Ce début d'activité a été suivi d'un faible nombre de demandes de diagnostic les années suivantes. Elles étaient en relation avec l'établissement d'un bilan zoonositaire de géniteurs sauvages ou d'un diagnostic d'épisode de mortalités anormales. Les agents étiologiques détectés étaient des microsporidies (*Ameson* dans les muscles squelettiques et "HP microsporidian of *P. monodon*" dans l'hépatopancréas) ou des bactéries Gram- appartenant à des espèces communément isolées chez les animaux aquatiques : *V. vulnificus* et *V. alginolyticus* fortement résistantes à l'érythromycine et à l'oxytétracycline mais très sensibles au Florfénicol et au Triméthoprime/Sulfaméthoxazole.

En décembre 2010, toujours dans un contexte de mortalités anormales, les analyses microbiologiques combinées à la PCR ont permis d'identifier dans des crevettes mortes, la présence de bactéries fréquemment associées à des problèmes pathologiques en aquaculture : *V. harveyi*, *Aeromonas hydrophila/caviae*, *V. vulnificus*). Les analyses histopathologiques de crevettes moribondes ont montré des lésions associées à l'infection massive de l'hépatopancréas par des bactéries Gram- et/ou une atteinte des branchies et des muscles entraînant une nécrose de ces organes. Une PCR positive à *V. nigripulchritudo* a été retrouvée dans 4/5 crevettes mortes sans isolement de la bactérie. Sur les crevettes apparemment "saines", aucun résultat significatif n'a été trouvé en dehors de la présence d'une flore polymorphe banale de la crevette.

### • Confirmation d'espèce par PCR d'isolats de *V. parahaemolyticus* et *V. cholerae*

Les analyses de confirmation par PCR ont été pour-

suivies pour le compte du LHAE en 2010. Elles ont concerné 473 lots de produits de la mer destinés à l'exportation à partir desquels 349 cultures comprenant 491 pools d'isolats obtenus par la méthode dite provisoire (CNRVC/ Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments / Ecole de Santé Publique de Rennes) et identifiés phénotypiquement *V. parahaemolyticus* ou *V. alginolyticus* ont été analysés. Le taux de contamination par *V. parahaemolyticus* était de 185 lots sur 473 (39,1%). Deux lots de produits de la mer (2/473 i.e. 0,4%) présentaient des souches de *V. parahaemolyticus* (*trh+*). A partir de ces mêmes lots de produits de la mer, parmi 49 pools d'isolats identifiés phénotypiquement *V. cholerae*, 2 pools d'isolats ont été confirmés *V. cholerae* mais *ctxA*-/*ctxB*-.

## Activités de développement, d'amélioration ou de validation des outils de diagnostic

### • Extraction d'ADN total à partir de tissus de crevette utilisant le TissueLyser

Afin de pallier les inconvénients du broyage au "piston-pellet" (temps et risques de contamination croisée), un homogénéiseur de tissus (TissueLyser II, Qiagen, 25 Hz, 2 min avec une bille d'acier de 0.5 cm) a été testé sur 10 tissus (pléopodes de 10 crevettes). La qualité et la quantité des acides nucléiques ont été estimées par le rapport  $DO_{260_{nm}}/280_{nm}$  et une PCR en temps réel (KAPA SYBR Fast qPCR) spécifique d'un gène de ménage de la crevette (facteur d'élongation- $\alpha$ , Dahr *et al.*, 2001). Les amplicons montrent une température de fusion ou  $T_m$  spécifique à la valeur attendue de  $79,5 \pm 0,5^\circ C$  pour chaque groupe d'extraits.

### • Méthodes de diagnostic du White Spot Syndrome Virus (WSSV)

La première méthode installée en 2007 est la méthode de référence décrite par Lo *et al.*, 1996 (Manuel Aquatique, OIE 2006). C'est une méthode longue qui comprend 2 PCR successives (Nested-PCR en 2 tubes). Afin de réduire les risques de contamination croisée et la durée du test, la première PCR en 20 cycles suivie d'une Nested PCR en 40 cycles est effectuée dans le même tube après ajout du 2<sup>ème</sup> mix PCR. Cette PCR modifiée en 2008 a montré la même sensibilité que la méthode originale (5-50 copies).

Deux méthodes PCR Taqman utilisant des sets d'amorces et leurs sondes respectives doublement marquées ont également été mises en place (East *et al.*, 2004; Sritunyalucksana *et al.*, 2005; Tang, Lightner, 2001).

### • Mise en place et validation de la technique de diagnostic RT-PCR en temps réel du complexe YHV-GAV

Le complexe viral YHV-GAV comprend 6 génotypes répertoriés. Les techniques de diagnostic RT-PCR YHV-

GAV dont le kit IQ2000 YHV/GAV (GeneReach Biotechnology Corp.) sont limitées à la détection des génotypes 1 et 2. Une technique récente de PCR en temps réel SYBR Green (Wijegoonawardane *et al.*, 2010), faisant appel à des amorces dégénérées consensus capable de détecter les six génotypes du complexe YHV-GAV a été mise en place et validée.

La spécificité de l'amplification a été vérifiée par la mesure des  $T_m$  ( $79 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ) avec le kit KAPA SYBR Fast qPCR (KapaBioSystems) et par la mise en évidence de produits d'amplification de la taille attendue (147 pb). La limite de détection de la méthode a été vérifiée. La technique est plus sensible que la RT-PCR conventionnelle (2 vs 20 copies).

#### • Mise en place de deux techniques pour la détection de TSV

Les kits commerciaux de détection de TSV sont coûteux et les PCR conventionnelles décrites récemment sont moyennement sensibles (Nunan *et al.*, 1998). Des publications récentes proposent des méthodes plus sensibles ou plus rapides. La méthode de référence par RT-PCR Taqman a été préalablement mise en place afin de permettre la validation d'une nouvelle méthode décrite par le groupe de DV Lightner (Navarro *et al.*, 2009). Les résultats du LES ont permis de vérifier que la RT-PCR en temps réel et la RT-PCR conventionnelle de Navarro *et al.*, 2009 avaient la même sensibilité qu'une Nested RT-PCR (20 copies).

### Développement des outils de diagnostic de Vibrios

L'accent a été mis sur les espèces d'importance économique et sanitaire (i) *V. nigripulchritudo*, pathogène à potentiel épizootique en raison de l'émergence qui a été détectée en 2007 par le LES dans une ferme d'élevage de crevettes *P. monodon* et de son pouvoir pathogène reconnu en Nouvelle Calédonie et au Japon (ii) les vibrios potentiellement entéropathogènes *V. parahaemolyticus* et *V. cholerae* non O1/non O139 pour l'homme.

#### • Détection de *V. nigripulchritudo* dans les tissus de crevette : distribution de *V. nigripulchritudo* et mesure de la charge bactérienne

La limite de détection dans l'homogénat de tissu chargé artificiellement est de 10 copies par réaction versus 3 copies de génome dans une suspension de bactéries pures par réaction. Les crevettes examinées étaient conservées à  $-80^\circ\text{C}$ . La détection directe de *V. nigripulchritudo* par qPCR SYBR Green après broyage des tissus d'hépatopancréas, de pléopode ou de muscle au Tissuelyser et extraction d'ADN total avec le kit

High Pure PCR Template kit (Roche) a permis de détecter des charges variant de  $1,2 \times 10^4$  à  $7 \times 10^6$  équivalent CFU/g de tissu dans 8/8 crevettes moribondes prélevées lors d'une épidémie associée à *V. nigripulchritudo* vs 6/8 par isolement direct à partir d'un homogénat de tissu. Aucune des crevettes témoins, 4 crevettes apparemment saines et aucune des 2 crevettes moribondes infectées par *Vibrio spp* et des microsporidies, n'a montré de PCR positive ni d'isolement direct positif. La limite de détection directe par qPCR dans les tissus est comparable à celle qui est observée pour d'autres vibrios dans des conditions analogues de préparation. Dans notre expérience, le taux de détection est plus élevé par qPCR et à des charges bactériennes plus élevées que par isolement direct. Cette différence est probablement liée à la survie/stress des vibrios à la congélation (présence de vibrios non cultivables).

La présence de *V. nigripulchritudo* a été constamment observée dans le pléopode qui apparaît donc comme le tissu de choix. Sa biopsie n'est pas létale et permet d'effectuer un diagnostic sans sacrifier l'animal. Cependant, si cette sensibilité est suffisante pour confirmer un diagnostic clinique, elle est insuffisante pour une surveillance où il serait intéressant de détecter la présence du pathogène à des doses infracliniques. Des pistes d'augmentation de la sensibilité sont à envisager dont un pré-enrichissement par culture avant PCR. Les échantillons fixés à l'éthanol prélevés (pléopodes ou pièces entières à disséquer) durant les mêmes épisodes morbides seront également examinés par PCR.

#### • Développement des outils de diagnostic de *V. parahaemolyticus*

*V. parahaemolyticus*, est à la fois impliqué dans les infections chez l'Homme et chez les crustacés. La méthode PCR utilisée en routine par le LES pour la confirmation d'espèce de *V. parahaemolyticus* décrite par Lee *et al.* (1995) cible un gène non codant R72H. Cette méthode est largement utilisée dans le monde. Cependant, des travaux récents (Rosec *et al.*, 2009 ; Croci *et al.*, 2007) ont décrit une moins bonne sensibilité de la "PCR R72H" comparée à la PCR ciblant le gène *toxR* décrite par Kim *et al.* (1999). Contrairement à ces auteurs, une étude prospective menée en collaboration avec le LHAE en 2010 sur 165 pools de 1 à 5 isolats identifiés phénotypiquement comme *V. parahaemolyticus* ou *V. alginolyticus* et isolés à partir de crevettes ou de crabes montre un agrément de 96,9 % entre les 2 méthodes PCR. Ces résultats confirment les travaux préliminaires du LES portant sur 63 pools d'isolats en 2009.

# Centre International de Vaccination

Ce service est à la disposition du public pour effectuer l'ensemble de vaccinations éventuellement recommandées à Madagascar ou exigées pour les voyages internationaux.

## Vaccination internationale

1 465 vaccinations anti-amarillaires avec délivrance d'un certificat international de vaccination ont été réalisées (VACCINAMARIL STABILILISE) (-0,61 % par rapport à l'année précédente).

## Autres vaccins

9 100 doses de vaccins de différentes natures ont été administrées (-15,66 % par rapport à l'année précédente). Par ailleurs, 639 IDR à la tuberculine ont été pratiqués.

Tableau 1 : Nombre des différents vaccins administrés

Nature du vaccin	Nom générique du vaccin	Nombre de Vaccinations (%)
Act Hib	Anti-haemophilus Influenzae b	18 (0,20)
Avaxim	Anti hépatite A	307 (3,37)
Avaxim pédiatrique	Anti hépatite A	144 (1,58)
Meningo A+C	Anti méningococcique A et C	623 (6,85)
Pneumo 23	Anti pneumococcique	191 (2,10)
ROR	Anti rougeoleux, ourlien et rubéoleuse	1 109 (12,19)
Verorab	Anti rabique	343 (3,77)
Infanrix Hexa	Anti diphtérique, tétanique, coquelucheuse, poliomyélique, haemophilus influenzae b, hépatite B	350 (3,85)
Tetavax	Anti tétanique	238 (2,62)
Typhim Vi	Anti typhique	945 (10,38)
Dultavax	Anti diphtérique, tétanique et poliomyélique	912 (10,02)
Vaxigrip	Anti grippal	2 151 (23,64)
Pentaxim	Anti diphtérique, tétanique, coquelucheuse, poliomyélique, haemophilus influenzae b	307 (3,37)
Euvax B pédiatrique	Anti hépatite B	520 (5,71)
Euvax B adulte	Anti hépatite B	922 (10,13)
Varilrix	Anti varicelle	20 (0,22)

# Centre de Traitement Antirabique

## Données d'analyse du fichier du centre antirabique de l'IPM, année 2010

### Données patients

Durant l'année 2010, 4 022 nouveaux consultants (prise en charge initiale) ont été enregistrés dans le fichier du centre antirabique de l'IPM, 74 personnes sont venues pour une reprise de traitement après abandon et 46 pour poursuite de traitement après transfert d'un autre centre antirabique.

Pendant l'année 2010, nous avons utilisé systématiquement le vaccin sur culture cellulaire (VERORAB®), généralement selon le protocole Thaïlandais pour la prise en charge post exposition à Madagascar.

Une analyse descriptive a été réalisée sur les 4 022 nouveaux consultants enregistrés.

Le sex-ratio H/F était égal à 1,18/1; l'âge moyen des patients de 25 ans avec un âge médian égal à 20 ans et des extrêmes de 1 an (15 jours) et 91 ans.

La majorité des patients habitaient dans le "Grand Tana" (Antananarivo Renivohitra, Atsimondrano, Avaradrano et Ambohidratrimo) ils représentaient 93,47% des patients potentiellement exposés (3 609/4 022).

Parmi eux, 2 119 (53,2%) venaient d'Antananarivo Renivohitra, 646 (16,1%) d'Antananarivo Atsimondrano, 412 (12,1%) d'Antananarivo Avaradrano, et 432 (9,6%) d'Ambohidratrimo. Les lieux d'exposition de la victime ne différaient que très exceptionnellement de leur arrondissement de résidence.

97,8% (3 934/4 022) ont été traité par le vaccin sur culture cellulaire Vero "Verorab®" selon le protocole Thaïlandais et 22 (0,5%) selon le protocole préconisé par l'OMS (injection intramusculaire). La mise en œuvre initiale du traitement avec une sérothérapie a été réalisée chez 378 sujets soit dans 11,8% des cas (378/4 022).

Parmi les consultants, 1 198 (28%), ont reçu un traitement complet, 2 151 ont arrêté le traitement à J7, suite à un résultat de la mise en observation de l'animal mordeur qui était indemne de rage ou suite à un abandon.

Dans 1,6% des cas (66/4 022), les conclusions de la consultation n'ont pas justifié la mise en œuvre du traitement antirabique.

Tableau 1 : Répartition des patients selon le type de traitement et l'application de sérothérapie au début de la prise en charge

Sérothérapie	Vaccin sur culture cellulaire		Patients non traités	Total patients
	Thaïlandais	OMS		
OUI	375	3	0	378
NON	3 559	19	66	3 644
<b>Total</b>	<b>3 934</b>	<b>22</b>	<b>66</b>	<b>4 022</b>

### Données animales

Le chien est nettement prédominant et représente 90% (3 629/4 022) des espèces animales connues responsables de l'exposition. Les autres espèces animales



sont par ordre décroissant le chat dans 4,8% des cas, le rat dans 2,4% des cas et le lémurien dans 0,9% des cas. Un contact avec un cas de rage humaine a consulté en début d'année. Ce patient provenait de Moramanga. Il n'a pas voulu être traité.

Le tableau suivant présente une caractérisation des animaux selon les déclarations des patients .

Sur les 2 667 animaux de propriétaires connus, nous avons reçu 1 732 (64,5%) résultats de première mise en observation, 1 580 soit 58,8% de deuxième résultats et 1 468 soit 54,7% de troisième résultats seulement.

Le fonctionnement des 21 centres de vaccination répartis sur le territoire (en dehors de l'IPM), a bénéficié de suivis et d'évaluations.

Tableau II : Répartition des caractéristiques des principales espèces animales selon les caractéristiques décrites lors de la consultation initiale

Caractéristique de l'animal	Chien	Chat	Lémurien	Autres*	Total
Errant disparu	833	33	11	102	979
Errant vivant (propriétaire inconnu)	72	6	2	0	80
Domestique (propriétaire connu)	2 505	136	10	16	2 667
Domestique disparu	13	11	0	0	24
Domestique abattu	106	2	0	1	109
Domestique mort de «maladie»	100	7	0	56	163
<b>Total</b>	<b>3 629</b>	<b>195</b>	<b>23</b>	<b>175</b>	<b>4 022</b>

\* 175 patients ont été exposés à des espèces autres que le chien, chat ou lémurien

## Laboratoire Central de la Peste Unité de production de bandelette

Le développement des activités de recherche et de santé publique sur les tests de diagnostic rapide de l'Unité Peste ont permis la mise en place en son sein d'une Unité de Production de tests de diagnostic rapide sur bandelette et ce depuis 2001. Bien que destinée au départ à la production de bandelettes de détection d'antigène F1 pour la peste, l'infrastructure en place est optimisée grâce à d'autres programmes dans la thématique des tests rapides immuno-chromatographiques. Elle sert aujourd'hui à produire des bandelettes de différents types, à des fins de santé publique ou de recherche. Selon l'organisation au sein de l'IPM, l'infrastructure a été transférée à l'Unité Immunologie en 2010. Par ailleurs, dans le cadre du transfert de technologie, l'activité de production reste encore sous la supervision du chef d'Unité Peste par interim. En 2010, 2000 bandelettes de détection d'antigène F1 ont été produites pour compléter le reliquat de 2009 et afin d'assurer :

- le ravitaillement des CSB foyers pesteux pour le diagnostic au chevet du malade
- le diagnostic de routine de la peste au LCP du Ministère de la Santé à Madagascar
- les demandes internationales
- les activités de recherche.

A Madagascar, sept DRS et 15 SSD ont été dotés en bandelettes F1. Cinq pays ont fait l'objet de distribu-

tions de bandelette à l'extérieur (Italie, Libye, Tanzanie, Afrique du Sud et Pérou). Le tableau ci-dessous résume la production - diffusion - consommation de bandelettes antigène F1 peste sur 5 ans.

Tableau I : Production et diffusion de TDRA et son kit

	2006	2007	2008	2009	2010
Production bandelettes	4 300	4 400	4 000	7 000	200
Diffusion/Consommation bandelettes Madagascar	1 604	1 461	1 278	899	781
Diffusion/Consommation bandelettes extérieur	605	1 170	140	260	1 140
Consommation bandelettes LCP	2 682	3 029	3 227	4 692	1 843
Kit de prélèvement / transport distribués	1 896	2 244	1 216	826	1 029
Guides dotés	65	2	13	29	0
Affiches dotées	63	12	12	3	0

### Conclusions et perspectives

L'IPM dispose du plateau technique nécessaire à la production des tests rapides pour des activités de service mais aussi pour des activités de recherche. Afin de pouvoir offrir plus de garanties sur les tests produits, une amélioration des conditions de travail (personnels, locaux adaptés, maintenance appareils) ainsi qu'une formation complémentaire sur l'assurance qualité de la chaîne de production des tests a été initiée et sera poursuivie.

# Service Qualité

Le service qualité (SQ) a pour mission d'accompagner et de mettre en oeuvre la politique qualité de l'IPM. Il 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, un engagement permanent et un réel défi face aux contraintes économiques et à l'évolution des coûts de la santé.

Au même titre que l'ensemble des unités et services de l'IPM, l'objectif principal du SQ est d'assurer la fiabilité et la crédibilité des résultats fournis par les unités, laboratoires et services de l'IPM. Pour cela, le SQ est chargé de développer trois axes principaux : l'Assurance Qualité, la Métrologie et la Biosécurité. Il assure également des activités de formation en interne qu'en externe et apporte, le cas échéant, son expertise aux collaborateurs et partenaires de l'IPM.

## Assurance Qualité

En termes d'Assurance Qualité (AQ), les principales activités du SQ consistent à :

- accompagner les unités et services à mettre en place un système qualité selon un référentiel choisi par les chefs d'unité ou de service et validé par la direction,
- évaluer et auditer les systèmes qualité mis en place,
- soutenir les responsables qualité comme les correspondants qualité des services,
- assurer la formation du personnel à la qualité, en métrologie et en biosécurité,
- et assurer la constitution d'une base documentaire de normes et de réglementations opposables aux secteurs d'activité de l'IPM.

En fonction des objectifs qualité de chaque entité, le SQ apporte son appui et conseils aux chefs d'unité ou service. Des réunions qualité hebdomadaires et mensuelles sont organisées à l'issue desquelles les plans d'actions sont élaborés avec les équipes des services concernés. Chaque entité a la charge de la mise en oeuvre de son plan d'actions qualité. Le SQ évalue par la suite les systèmes qualité mis en place et contribue, en accord avec les responsables des entités, à la mise en place des axes d'amélioration.

En 2010, les activités d'accompagnement concernaient essentiellement :

- le Laboratoire d'Epidémiologie-Surveillance des pathologies des crevettes (LES) pour la formalisation d'un système qualité selon la "Norme de qualité et lignes directrices de l'OIE applicables aux laboratoires vétérinaires – version 2008";

- l'unité des mycobactéries pour la mise en place d'une démarche qualité selon la Norme NF EN ISO 15189 :2007;

- le centre de biologie clinique (CBC) pour le projet d'accréditation COFRAC selon la Norme NF EN ISO 15189 :2007;

- Pour le Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement (LHAE), accrédité COFRAC selon la Norme NF EN ISO/CEI 17025 depuis 2007 : conseil et soutien à la nouvelle responsable qualité dans la mise en place des actions d'amélioration continue. L'objectif était d'assurer le renouvellement de l'accréditation COFRAC, en analyses alimentaires et eaux, prévu fin 2011. A noter que le SQ est également audité par le COFRAC pour la métrologie.

En termes d'évaluation et d'audits qualité internes, le SQ ne dispose que de 2 auditeurs habilités. Malgré ce nombre très réduit d'auditeurs, 2 évaluations et 9 audits internes ont été réalisés en 2010. Les résultats des audits étant confidentiels, seul le bilan des audits internes réalisés par service demandeur est reporté dans le tableau I.

Tableau I : Les audits internes et évaluations réalisées

Activités auditées	Services				Total
	CBC	LES	LHAE	MYCO	
Management	2		1		3
Méthode			1		1
Gestion des produits consommables			1		1
Gestion du Matériel	1		1		2
Gestion du Personnel	1		1		2
Evaluation selon Référentiel adopté		1		1	2
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>11</b>

## Métrologie

La Métrologie est une activité essentielle sur laquelle repose la crédibilité des résultats d'analyses réalisées par les laboratoires. Dans ce cadre, le SQ garantit la fiabilité, la justesse, la reproductibilité et la fonctionnalité des appareils de mesure en assurant leur raccordement au Système International (SI) de mesure. Les grandeurs concernées sont : la température, la masse et la volumétrie. Les appareils de mesure critiques sont ainsi étalonnés et vérifiés à intervalle régulier défini par les normes et en fonction du type, de la fréquence d'utilisation ou de l'état de fonctionnement des appareils. Si les résultats d'étalonnage fournissent les caractéristiques métrologiques permettant d'apporter les corrections (as-

sociées aux incertitudes) aux mesurages réalisés, la vérification permet, quant à elle, d'établir la conformité d'un appareil de mesure aux exigences ou spécifications métrologiques définies par l'utilisateur et se rapportant aux analyses concernées.

En 2010, 182 appareils de mesure ont été étalonnés ou vérifiés (tableau II). Il s'agit d'appareils de mesure critiques pouvant avoir un impact réel sur la qualité des résultats d'analyse. Les ressources humaines et matérielles du SQ étant encore limitées, la priorité a été axée sur les appareils des laboratoires accrédités, en démarche d'accréditation ou engagés dans une démarche qualité.

Tableau II : Nombre d'appareils de mesures étalonnés et vérifiés en 2010

Type d'appareils de mesure	Etalonnages	Vérifications	Total
Thermomètres	37		37
Masses	20		20
Chambre froides		2	2
Congélateur		1	1
Etuves		75	75
Réfrigérateurs		6	6
Bains		18	18
Balances		23	23
<b>Total</b>	<b>57</b>	<b>125</b>	<b>182</b>

### Biosécurité

L'amélioration de l'hygiène, de la sécurité et des conditions de travail figure parmi les priorités de la direction de l'IPM. La mission de la chargée de prévention de l'IPM au sein du comité consultatif d'hygiène et de sécurité (CCHS) consiste à mettre en oeuvre la politique relative à la sécurité et à la prévention des risques professionnels. Les actions initiées depuis 2007 ont été poursuivies, à savoir le contrôle et vérification périodiques des matériels et installations sensibles par des organismes agréés (hottes et PSM, installations de gaz), la formation et la sensibilisation du personnel.

En 2010, le SQ a porté un intérêt particulier à la prévention des risques liés aux déchets. C'est ainsi que la mise en place effective du tri sélectif des déchets s'est concrétisée en février 2010. L'objectif était de maîtriser la production, le conditionnement, le circuit et le traitement des déchets notamment dangereux.

De février à décembre 2010, près de 28 000 kg de déchets ont été produits par l'ensemble des unités et services (tableau III). Ces déchets sont constitués de "déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés" ou DASRI, de "déchets assimilés aux ordures ménagères" ou DAOM ainsi que de déchets ménagers. Le traitement et l'élimination d'une grande partie des DASRI et des DAOM sont réalisés par une entre-

prise agréée depuis février 2010. Les déchets de papiers et cartons sont recyclés par un industriel. Le reste, essentiellement constitué de déchets très spécifiques (piquants, pièces anatomiques, déchets chimiques incinérables, etc.) est traité sur le campus de l'IPM. Les déchets ordinaires ne représentant aucun risque particulier sont déposés à la décharge de la commune urbaine d'Antananarivo selon les textes nationaux en vigueur.

Tableau III : Production et traitement des déchets

	Quantité de déchets produits par catégorie (kg)		
	DA SRI	DAOM Ménagers (*)	Total général
Traités par IPM	7 200	2 715	9 915
Traités par ADONIS	15 485	2 507	17 992
<b>Total</b>	<b>22 685</b>	<b>2 507</b>	<b>27 907</b>

(\*) Déchets constitués essentiellement de restes de repas non servis à la cantine du personnel

La qualité du tri et de la gestion générale des déchets a réellement évolué. L'ensemble du personnel a été sensible au respect des procédures générales ainsi qu'aux risques potentiels liés aux déchets. Des axes d'amélioration ont été identifiés pour rationaliser la production et réduire le coût de l'élimination des déchets. La problématique reste l'élimination des déchets toxiques notamment des CMR (produits cancérigènes, mutagènes et reprotoxiques) et des polluants (solvants, insecticides, etc.).

### Collaborations avec les partenaires de l'IPM

En avril 2010, la Responsable Qualité de l'IPM a participé, avec une équipe d'évaluateurs du Ministère de la Santé Publique, à une mission d'évaluation de quelques laboratoires des régions d'Analamanga (HJRA, CHU Fenoarivo, CHD2 Itaoso), d'Itasy (CHRR Miarinarivo, CHD1 Arivonimamo) et de Bongolava (CHRR Tsiroanomandidy). Cette mission a été réalisée dans le cadre des appuis du projet RSIE-SEGA de la Commission de l'Océan Indien au renforcement des capacités nationales de surveillance et investigation des épidémies.

### Conclusion

Les actions planifiées en 2010 ont été réalisées dans leur ensemble. Les activités ont porté essentiellement sur l'accompagnement de plusieurs unités engagées dans une démarche qualité. Les évaluations et audits internes planifiés sur l'année ont été réalisés à l'exception de la métrologie; la responsable qualité de l'IPM étant la seule auditrice habilitée dans le domaine ne peut

auditer une activité dont elle est responsable. Si les moyens du Service n'ont pas permis de faire évoluer le nombre d'appareils étalonnés et vérifiés, le planning d'étalonnage et de vérification a toutefois été respecté dans sa globalité. En termes de biosécurité, l'année 2010 a été marquée par la mise en place du tri sélectif des déchets et l'externalisation du traitement et de l'élimination d'une partie des déchets.

Par ailleurs, le SQ est également mené à apporter sa contribution pour le bon fonctionnement général de l'IPM. Dans ce cadre, le chef du SQ apporte son soutien technique dans l'élaboration du programme annuel d'équipement (PAE) comme dans la mise en place d'axes d'amélioration concernant les domaines relevant de ses compétences.

Enfin, 2010 a été également marquée par l'augmentation des sollicitations émanant de partenaires et collaborateurs (nationaux et étrangers) externes de l'IPM. Les demandes concernaient essentiellement la formation et la métrologie. La faiblesse en ressources huma-

nes et matérielles n'a pas permis au SQ de répondre à toutes les demandes.

### **Perspectives**

La qualité des prestations du SQ est primordiale pour permettre à l'ensemble des unités ou services d'atteindre leurs objectifs qualité respectifs. Le rôle principal du SQ consiste à répondre aux exigences et besoins de l'ensemble de ces unités et services. Les activités du SQ peuvent être mieux développées et évoluer. Pour cela, l'installation effective du laboratoire de métrologie est essentielle afin d'améliorer et mieux maîtriser les processus de mesure. Les évaluations et audits internes doivent pouvoir s'étendre à l'ensemble des activités de l'IPM pour vérifier l'efficacité des systèmes qualité mis en place. L'équipe d'auditeurs internes doit pour cela être étoffée et la formation du personnel renforcée. Avec un effectif réduit et des moyens limités, Le SQ aurait besoin de voir améliorer ses effectifs, moyens et capacités (aptitudes et compétences) pour s'investir d'avantage dans ses missions et atteindre la totalité de ses propres objectifs.

---

---

# **ACTIVITES DE FORMATION**

---

---

---

---

# ACTIVITES DE FORMATION

---

---

## **Considérations générales**

*Les activités de formation représentent l'une des quatre missions traditionnelles des Instituts Pasteur du Réseau International. L'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) est fidèle à cette mission et ses scientifiques sont très souvent sollicités.*

*A Madagascar, la formation concerne la formation continue du personnel de l'Institut et également l'enseignement et l'accueil en stages de personnes extérieures.*

*L'IPM participe à deux enseignements majeurs à Madagascar : l'internat qualifiant en biologie médicale, et la formation des techniciens de laboratoire pour laquelle il a été désigné maître d'œuvre par le Ministère de la Santé Publique.*

*L'IPM continue d'accueillir de nombreux stagiaires malgaches et étrangers, et de susciter autour de ses activités la possibilité de travaux de thèses d'exercice, DEA et thèses d'université.*

*Un effort tout particulier a été fait ces dernières années pour promouvoir la formation continue du personnel et pour favoriser les thèses en cotutelles entre l'Université d'Antananarivo et une université française. Une ligne budgétaire spécifique a été créée pour cela.*

# Formations

## 1- Formation continue d'agents de l'IPM

### 1.1 A Madagascar

- **Andriamamonjy S, Rabemanantsoa S, Randriamanantena A, Razafindratsimandresy R, Razafilalaintsoa J, Ratsimiahly R, Raharimanana C, Andrianimanana D, Andrianaivolambo L, Rakotoniaina JC, Tata E, Ramihangihajason T, Tantely LM, Randriamaherijaona S** : *Informatique Bureautique*, IPM Antananarivo.

- **Elissa N, Ratovonjato J, Tantely LM, Randriamaherijaona S, Rahelinirina S, Andrianaivoarimanana V, Raharilantsoa Y, Charrier L** : *Formation Logiciel R et Statistique*, IPM Antananarivo.

- **Personnel scientifique et technique de l'unité des Mycobactéries** : *Informatique Bureautique*, IPM Antananarivo.

- **Rakotonanahary N** : *Formation sur la lecture des lames de FCU*, IPM Antananarivo.

- **Ralafiarisoa L** : *Démarches qualité*, IPM Antananarivo.

- **Ramarokoto H** : *participation à l'Atelier d'information, imprégnation du Proposal Round 8*, Office National de Nutrition, Antananarivo.

- **Ranaivomanana P, Vololonirina EJ** : *Formation pratique sur la cytométrie de flux (par ImmunoVac Consulting)*, IPM Antananarivo.

- **Randrianirina F, Ramparany L, Ratsima E, Raharisolo Vololonantenaina C** : *formations continues en ligne sur les thématiques Cytologie, Hématologie, Parasitologie, Mycologie, Spermiologie, Coprologie fonctionnelle*, .

- **Rasolonalona T** : *Formation sur le processus d'évaluation des laboratoires de santé publique dispensée par IQLS/COI*, LNR Antananarivo.

- **Ratovonjato T** : *Formation à la rédaction scientifique et technique – Appui méthodologie (écrivain)*, IPM Antananarivo.

### 1.2 A l'étranger de Madagascar

- **Orelle A** : *Atelier de formation sur la surveillance et la susceptibilité des virus grippaux aux antiviraux*, OMS, Health Protection Agency, Londres, UK.

- **Rahelinirina S** : *Cours zoonose*, IP Paris.

- **Rajatonirina S** : *Cours d'été ISPED, 2 modules : Régression logistique, Management de la qualité appliqué à la recherche épidémiologique*, ISPED / Université Victor Segalen, Bordeaux.

- **Rajerison M** : *Cours Biochimie des protéines*, IP à Paris.

- **Ramparany L** : *formation sur le diagnostic moléculaire des hémopathies malignes*, CHU Bordeaux.

- **Ratovoson R** : *Master2 par correspondance*, ISPED/Université Victor Segalen, Bordeaux.

- **Razanajatovo N** : *Atelier de formation sur le séquençage de génome des virus grippaux*, OMS, Singapore Polytechnic, Singapour.

- **Razanajatovo N** : *Atelier de formation sur la rédaction d'article scientifique*, CDC, Nairobi, Kenya.

## 2- Formations ou stages en cours à l'IPM

### 2.1 Thèses de sciences

- **Andriamanantena TS** : Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Unité Bactériologie Expérimentale. *Etude des environnements génétiques des gènes de résistance de bactéries Gram négatives*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Andrianaivoarimanana V** : Doctorat en Sciences (PhD). Unité Immunologie. *Interaction hôte animal et Yersinia pestis : étude de la réponse immunitaire humorale, cellulaire et inflammatoire lors d'une infection pesteuse*. Université de Versailles Saint- Quentin.

- **Andrianaranjaka V** : Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Unité Paludisme. *L'impact de la pression médicamenteuse liée à la politique de traitement antipaludique sur la population de Plasmodium falciparum à Madagascar*. Fa-

culté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Chakir I** : Stage d'immersion recherche - Thèse de sciences. Unité Immunologie. *Diagnostic de la neurocysticercose chez les sujets épileptiques*. Université de Comore, Moroni.

- **Kreppel K** : Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Unité Peste. *How will climate change affect the plague in Madagascar*. Université de Liverpool, Leahurst Neston Cheshire.

- **Raharilantsoa Y** : Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Unité Peste. *Dynamique spatio-temporelle des paysages à risques pesteux dans le Vakinankaratra, Haute Terres Centrales de Madagascar*. Faculté des Sciences (géographie), Université d'Antananarivo.

- **Rakotonirina HC** : Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Centre de Biologie Clinique. *Caractérisation des gènes de résistance chez les entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Rakotosamimanana N** : Doctorat en Sciences (PhD). Unité Mycobactéries. *L'utilisation de la technique de PCR en temps réel pour l'étude de marqueurs de l'immunité anti-tuberculeuse*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Ratovonirina NH** : Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Unité Mycobactéries. *Génotypage et tests de résistance de M. tuberculosis aux antibiotiques*, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Ravaoarisoa E** : Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Unité Paludisme. *Développement de nouveaux outils de diagnostic du paludisme : Caractérisation d'anticorps monoclonaux et Fab anti-HSP-70 et anti-HRP-II*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Razafindrajery MLH** : Licence ès-Sciences techniques. Unité Epidémiologie. *Détermination des facteurs déterminants les maladies à potentiel épidémique à Moramanga*. Ecole Supérieure Polytechnique Antananarivo.

- **Razanajatovo NH** : Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Unité Unité Virologie. *Identification et caractérisation des virus respiratoires à Madagascar*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Said Tohir AHO** : Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Unité des

Mycobactéries. *Outils diagnostiques de la tuberculose*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Tantely ML** : Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Unité Entomologie. *Biologie des moustiques vecteurs potentiels du virus de la Fièvre de la Vallée du Rift à Madagascar*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

## 2.2 DEA

- **Ranaivomanana P** : Unité Mycobactéries. *Etude de la réponse immunitaire de la population saine malgache aux antigènes de Mycobacterium tuberculosis*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Randriambolamanantsoa TH** : Unité Immunologie / Unité Paludisme. *Etude de l'activation calcique et de la chimiorésistance de Plasmodium falciparum en co-culture avec les cellules endothéliales*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Randrianarijaona S** : Unité Entomologie. *Les ectoparasites des petits mammifères malgaches*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Rasoahanitralisoa LR** : Unité Mycobactéries. *Génotypage MIRU/VNTR du bacille tuberculeux*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Rivo IJ** : Unité Paludisme. *Maîtrise de la recherche d'hémi-parasites sur des frottis sanguins de lémurien collectés dans la forêt Kirindy (DPZ)*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

## 2.3 DES

- **Ahmed M**. Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement. Master I. *Mise en place de la méthode de dénombrement et recherche des légionelles dans l'eau*. Faculté des Sciences, Université de Mahajanga.

- **Andrianarivo JEM**. Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement. BTS microbiologie. *Etude comparative entre deux méthodes de régénération des milieux de culture (le bain marie et le four à micro-onde)*. ISPM Antananarivo.

- **Franchard T**. Unité Immunologie. Master II. *L'évaluation des performances d'un score bio-clinique dans le dépistage de la neurocysticercose à Madagascar*. Institut de la Francophonie pour la Médecine Tropicale (IFMT), Laos.



- **Guebey R.** Unité Immunologie. Master Pro. *Analyse chromatographique des antigènes de cysticerque.* Université Joseph Fourier, Grenoble, France.

- **Hoarau J.** Laboratoire d'Epidémio-Surveillance. Master I – 4<sup>ème</sup> année. *Etude de Vibrio nigripulchritudo, pathogène associé à certains épisodes de mortalité des crevettes d'élevage Penaeus monodon.* Département de Génie Biochimique et Alimentaire, INSA Toulouse, France.

- **Raharisolo Vololonantenaina C.** Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques. DIUS. 4<sup>ème</sup> année de formation en anatomie et cytologie pathologiques. Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Rakotoarisoa TH.** Unité Epidémiologie. DEA en sociologie. *Enquête comportementale vis-à-vis de la diarrhée dans le district de Moramanga.* Faculté DEGS, Université d'Antananarivo.

- **Ramanakoto TF.** Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement. Diplôme d'Ingenieur Agronome. *Contribution à l'étude comparative de deux méthodes de recherche de Vibrio cholerae et de Vibrio parahaemolyticus dans les produits de mer.* Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Université d'Antananarivo.

- **Randriarimanana MT.** Centre de Biologie Clinique. Licence L3 ingénierie de la santé parcours sciences de médicaments. *Application d'utilisation des contrôles de qualité dans le domaine microbiologie.* Faculté de Médecine, Université Henri Poincaré, Nancy.

- **Trompette W.** Laboratoire d'Epidémio-Surveillance. Master Professionnel I - Santé animale et Epidémio-surveillance dans les pays du Sud. *Diagnostic moléculaire des pathologies de la crevette : détection du Taura Syndrome Virus ou TSV par RT-PCR en temps réel.* Faculté des Sciences, Université Montpellier II, France.

#### 2.4 Doctorat en Médecine

- **Rakotomananjo A :** Unité Epidémiologie. *Impact des diarrhées infantiles sur le développement staturo-pondéral des enfants de moins de 24 mois dans le district de Moramanga.* Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Rakotoniriana HMI :** Unité Epidémiologie. *Ana-*

*lyse descriptive des données de la surveillance sentinelle.* Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Randriarilala H :** Unité Epidémiologie. *Incidence et facteurs de risque des diarrhées chez les enfants de moins de 24 mois.* Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Ratsimbazafy R :** Unité Paludisme. *Evaluation de l'efficacité thérapeutique de Artesunate et amodiaquine en combinaison fixe à Maevatanana pendant la période sèche.* Service de Lutte contre la Tuberculose et la Lèpre, Direction Générale de la Santé.

#### 2.5 Doctorat en Médecine Vétérinaire

- **Andrianony SA :** Unité Paludisme. *Standardisation de la PCR multiplex pour la détection de la co-infection filariose/paludisme chez les lémuriers et chez l'homme.* Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Arivony Nomenjanahary LS :** Unité Virologie. *Développement du diagnostic FVR à partir de séro-buvar ou détection de Lyssavirus par PCR sur prélèvement de chauve-souris.* Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Rakotonirainy N :** Unité Epidémiologie. *La densité canine et risque rabique dans le district de Moramanga.* Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Ralaivelo PM :** Unité Virologie. *Recherche des virus grippaux (SIV, swine influenza virus) chez le porc domestique à Madagascar (région Alaotra Mangoro - Lac Alaotra).* Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Rasoamampianina V :** Unité Immunologie. *Etude de la réponse calcique et de la chimiorésistance de Plasmodium falciparum en co-culture avec les cellules endothéliales.* Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Ratsimbazafy N :** Laboratoire d'Epidémio-Surveillance. *La détection des vibrios par hybridation in situ.* Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Razafindralambo NK :** Unité Virologie. *Arénavirus et Hantavirus chez les petits mammifères sauvages terrestres de Madagascar.* Faculté de Médecine, Filière Vétérinaire, Université d'Antananarivo.

## 2.6 Doctorat en Pharmacie

- **Boussard M** : Unité Immunologie. *Diagnostic de Cysticercose*. Centre Hospitalier Universitaire de Nancy.

## 2.7 Stages techniques, professionnels et d'étudiants

- **Abdallah ML, Mamie LA** : Unité des Mycobactéries. *Stage pratique en mycobactériologie. Extension de la culture du BK au Laboratoire Régional de Référence des Mycobactéries de Mahajanga*. CHU Androva, Mahajanga.

- **Baulain C** : Unité Epidémiologie. *Le développement et la mise en place d'un site d'étude et de recherche dans le district de Moramanga concernant les diarrhées infantiles graves*. Ecole Internationale de Commerce et de Développement, Lyon, France.

- **Chan Ho Tong L** : Unité Immunologie. *L'altération in vitro de la barrière endothéliale induite par les cellules immunitaires des sujets prémunis contre le paludisme*. Université Paris 7, France.

- **Diene F** : Unité Epidémiologie. *Formation sur la surveillance sentinelle des fièvres*. Institut Pasteur de Dakar.

- **Dubois N** : Unité des Mycobactéries. *Stage de DU d'Insertion Professionnelle. Utilisation de l'ADN extrait à partir de frottis sur lame pour le diagnostic moléculaire de la résistance chez M. tuberculosis*. Université Sophia Antipolis, Nice.

- **Komoyo Pounoumoudjou GF** : Unité Unité Virologie. *Formation pratique au laboratoire sur la diagnostic de la grippe*. Institut Pasteur de Bangui.

- **Pillay P** : Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement. *Microbiologie des aliments*. Central Health Laboratory, Ministry of Health.

- **Rabeharifara ZP** : Laboratoire d'Epidémiologie-Surveillance. *Stage de découverte et initiation au travail de laboratoire*. Service de Lutte contre la Tuberculose et la Lèpre, Direction Générale de la Santé.

- **Rakotomanga MM, Razakarivo JMM** : Centre de Biologie Clinique. *Maîtrise des protocoles et des techniques en anatomie- pathologie dans le cadre de la lutte contre les cancers gynécologiques et mammaires à Madagascar*. La Fondation Akbaraly.

- **Ramanakoto TF** : Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement. *La mise en place au laboratoire d'une méthode normative pour la recherche des Légionelles dans l'eau*. Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Antananarivo.

- **Rasoarimalala G** : Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement. *Perfectionnement en technique d'analyse microbiologique alimentaire de l'eau et des produits hallieutiques*. Société de Pêche de Morondava.

- **Razafiarisoa J** : Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement. *Maîtrise des protocoles et des techniques d'analyses microbiologiques*. Société Aqualma.

- **Razafimahatratra SJ** : Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement. *Techniques d'analyses microbiologiques des eaux et des produits de la mer*. Société Law Frères.

- **Razafindralambo M** : Laboratoire d'Epidémiologie-Surveillance. *Découverte et initiation au travail de laboratoire*. Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Antananarivo.

- **Richard F** : Unité Epidémiologie. *Stage d'étudiant*. Lycée privé de Jean 23, Reims.

- **Vincent C** : Unité Epidémiologie. *La mise en place de la gestion des bases de données du site d'étude et de recherche dans le District sanitaire de Moramanga concernant les diarrhées infantiles graves et apporter son appui à l'ensemble des bases de données de l'Institut Pasteur de Madaga*. Fondation Jeunesse Internationale, France.

# Enseignements

Les cadres scientifiques de l'IPM participent activement aux enseignements théoriques et pratiques donnés dans le cadre de plusieurs enseignements :

## 2. Atelier de formation à l'épidémiologie de terrain

Formation destinée aux cadres du Ministère de la santé du niveau district sanitaire qui ont des responsabilités en termes de surveillance épidémiologique mais qui, faute de formation adaptée, sont souvent dans l'incapacité d'utiliser et d'analyser les informations qu'ils reçoivent. Cette première formation a permis non seulement de renforcer les compétences de chacun des apprenants mais aussi de créer puis d'animer un réseau d'acteurs déjà impliqués dans la surveillance auxquels il ne manque, le plus souvent, que la confrontation avec d'autres acteurs pour entamer une réelle réflexion sur leur propre système de surveillance. Elle a permis de réunir pendant six semaines des médecins de 3 pays de l'Océan Indien (Madagascar, Seychelles, Comores).

L'objectif de la formation est de renforcer des capacités d'expertise en matière de surveillance, d'autoformation et d'aptitude à la gestion de projets. A la fin de l'Atelier, les participants ont alors la capacité d'analyser les données de surveillance dans leurs districts respectifs, de mener une investigation d'épidémie, de rédiger un rapport de synthèse.

### PROGRAMME DE L'ATELIER

L'atelier sur la surveillance épidémiologique et l'investigation d'épidémies s'est déroulé pendant 6 semaines du 17 mai au 26 juin 2010. Il a reposé sur un travail individuel à réaliser sur un thème différent pour chaque apprenant et changeant chaque semaine. Ce travail s'est appuyé sur des recherches d'informations effectuées sur internet et sur un travail de terrain. L'encadrement a été effectué par des facilitateurs venant de différents organismes implantés à Madagascar mais aussi dans d'autres pays qui ont présenté des conférences sur les thématiques de la semaine.

#### *Semaine 1 – Informatique et communication oral :*

Semaine d'apprentissage de l'outil informatique (navigation sur internet, moteurs de recherches, logiciel de présentation).

#### *Semaine 2 – Surveillance épidémiologique :*

Surveillance de routine - Registres - Surveillance Senti-

nelle - Maladies à Déclaration obligatoire - Règlement sanitaire international.

*Semaine 3 – Surveillance laboratoire (virologie - parasitologie - bactériologie) :* Surveillance de l'antibiorésistance - Surveillance biologique des arboviroses - Surveillance des résistances aux antipaludiques - Surveillance de la grippe.

*Semaine 4 – Investigation d'épidémie (cours théorique et étude de cas pratiques) :* Théorie sur l'investigation épidémiologique - Mise en application d'une enquête rétrospective en population sur le site d'étude de l'IPM.

*Semaine 5 – Etude de terrain [enquête en population à Moramanga (sondage en grappe à deux degrés)] :* Outils d'analyse (analyse descriptive, analyses chronologiques) - Utilisation du logiciel Epi-info.

*Semaine 6 – Ecriture scientifique (Formation basée sur les informations collectées) :* Rédaction d'un rapport - Présentation orale - Présentation écrite

## 2- Atelier de formation sur le diagnostic biologique de la peste pour le pays Africains

*Organisation et encadrement : M Rajerison, L Charrier, V Andrianaivoarimanana, C Raharimanana, M Ratsimba, L Ralafiarisoa, N Andriananja, S Rahelinirina, S Telfer, N Elissa, M Ranjalaha, F Andriamiarimanana.*

*Collaborateurs : NHL S Afrique du Sud, CDC Atlanta*  
*Financement : OMS*

Le but de ce cours était de leur donner une formation de base sur le diagnostic de la peste et la méthodologie d'enquête en cas d'épidémie dans un contexte de ressources limitées.

Cette formation a permis le renforcement de la capacité des techniciens ou responsables de laboratoire dans la région africaine sur le diagnostic biologique de la peste. Les participants ont appris le diagnostic bactériologique par culture, la microscopie, le test rapide, la collecte et l'envoi d'échantillons et la surveillance de la peste animale. Cette formation leur a permis d'acquérir une base pour la surveillance de la peste et la confirmation d'une épidémie dans chaque pays. Par ailleurs, des collaborations ont été initiées lors de cet atelier.

### 3- Recyclage sur le test de diagnostic rapide de détection d'antigène de la peste

Ralafiarisoa L, Ratsimba M, Randriananja N, Andrianalimanana S, Rajerison M

Formation attribuée aux responsables des DRS.

### 4- Internat Qualifiant en Biologie Médicale

Organisateur : Faculté de Médecine,  
Université d'Antananarivo  
Coordination : Andrianirina F  
Financement : IPM

4 internes en médecine suivent à tour de rôle une formation dans les disciplines pratiquées au CBC.

Ils se répartissent dans toutes les spécialités du CBC en suivant le planning organisé par la Faculté de Médecine d'Antananarivo pour une période de 3 mois.

Sur le plan pratique, un biologiste est systématiquement présent à la paillasse et contribue ainsi directement à la formation pratique des internes.

### 5- Service Qualité

Rasolonalona T, Ramanantsoa ME

Les activités de formation s'inscrivent dans la mission du Service Qualité. La formation concerne la qualité, la métrologie et la biosécurité. Les membres du personnel de l'IPM sont les principaux destinataires des formations organisées mais le SQ peut être également sollicité par les collaborateurs ou partenaires externes de l'IPM.

- **Formation continue du personnel** : 13 séances de formations ont été organisées pour les 15 correspondants qualité des services. Les thèmes concernant la qualité étaient essentiellement axés sur la gestion documentaire et la maîtrise des 5M (Milieu, Main d'œuvre, Matériel, Matière et Méthode). En métrologie, la formation sur le suivi des appareils de mesure a été particulièrement renforcée. En biosécurité, les thèmes relatifs au tri et à l'élimination des déchets ainsi que la gestion des risques liés aux déchets ont été principalement abordés. Un rappel régulier sur la bonne pratique d'utilisation des équipements de protection contre les contaminations a été réalisé à l'endroit de l'ensemble du personnel.

- **Formation dispensée en externe** : formation sur la gestion des matériels et sur les principes généraux de la métrologie pour les personnels des laboratoires de la JIRAMA.

- **Formation en audit interne et habilitation d'auditeurs qualité internes** : la formation et l'habilitation des auditeurs internes de l'IPM relèvent de la responsabilité du SQ. En 2010, la nouvelle responsable qualité du LHAE a été habilitée.

### 6- Autres enseignements

- **Héraud JM** : participation à l'Atelier de formation « Surveillance épidémiologique et Investigation », IPM Antananarivo.

- **Jambou R** : membre du conseil de l'école doctorale « Science de la vie et de l'environnement » ; équipe d'accueil « Immunologie-Immunodiagnostic-Immunopathologie », Université d'Antananarivo ; membre du comité du master « Biologie cellulaire, biologie moléculaire » ; membre du comité de pilotage du réseau « Biodiversité et Santé ».

- **Ramarokoto H** : Organisation et participation à la formation des techniciens de laboratoire périphériques aux examens microscopiques des crachats.

- **Ramarokoto H** : Cours de Mycobactériologie aux étudiants vétérinaires. Université de Madagascar.

- **Ramarokoto H** : Cours de Mycobactériologie. Ecole des techniciens de laboratoire, Institut de Formation des Paramédicaux Antananarivo.

- **Rasolofo V** : Cours de Biologie et Génétique Moléculaire pour la 2ème année de Pharmacie. Faculté de Médecine d'Antananarivo.

- **Rasolofo V** : Cours de Génétique Moléculaire pour l'Aptitude d'Etudes Approfondies de Biochimie Appliquée aux Sciences Médicales. Faculté des Sciences d'Antananarivo.

- **Rasolonalona T** : participation avec une équipe d'évaluateurs du Ministère de la Santé, à une mission d'évaluation de quelques laboratoires des régions d'Analamanga (HJRA, CHU Fenoarivo, CHD2 Itaosy), d'Itasy (CHRR Miarinarivo, CHD1 Arivonimamo) et de Bongolava (CHRR Tsiroanomandidy). Cette mission a été réalisée dans le cadre des appuis du projet RSIE-SEGA de la Commission de l'Océan Indien au renforcement des capacités nationales de surveillance et investigation des épidémies.

## 1- Gestion documentaire

*Razafindrambola H*

Le Centre de documentation (CDoc) assiste les utilisateurs externes dans leurs recherches et les oriente selon leurs besoins, d'où l'installation de deux postes supplémentaires destinés aux consultations des bases de données et accès à internet.

Bien que restreint, l'accès aux bases de données de l'OMS est disponible pour les médecins, scientifiques ou autres sur le site de l'IPM, dans le domaine de la santé, de l'environnement et de l'agriculture.

Avec un accès contrôlé à tous les membres, le CDoc dispose de l'accès aux ressources électroniques de la Médiathèque scientifique Biolib, un portail réservé aux membres de l'Institut Pasteur à Paris et du réseau International (RIIP) permettant l'accéder à distance aux banques de données de la médiathèque et de faire les commandes des documents en ligne.

### 1.1 Fonds documentaire

Le fonds documentaire actuel comprend :

- 3 775 ouvrages (dont 1 993 de la discipline Sciences Médicales)
- 3 450 tirés à part
- 3 620 thèses (dont 3 229 thèses de médecine)
- 17 titres de périodiques (dont 9 en abonnements et 8 en dons et échanges)
- 176 cartes traitées et informatisées

### 1.2 Visioconférences

L'Institut Pasteur de Madagascar dispose actuellement un outil de visioconférence le TANDBERG 3000, grâce à la DAI.

La mise en place de sites de visioconférences dans tous les campus de l'Agence universitaire de la

Francophonie a été la préoccupation du comité pour la coopération scientifique et technique avec le Vietnam (CCSTVN) et l'Institut Pasteur. A cet effet, aucune visioconférence n'a eu lieu durant l'année 2010.

### 1.3 Journaux en ligne

- OARE, site homologue du système de recherche mondiale, en ligne dans le domaine de l'environnement
- Médiathèque scientifique de l'IP Paris (périodiques et séries électroniques), accessible uniquement depuis le campus de l'Institut Pasteur de Madagascar.
- HINARI, permet de chercher et accéder aux textes intégraux des articles de périodiques dans le domaine de la santé.
- AGORA, accès en ligne à une collection bibliographique exceptionnelle dans le domaine de l'agriculture.

### 1.4 Service aux utilisateurs

Les consultants préfèrent les documents virtuels.

Les commandes de documents sont assez fréquentes et presque pour les publications anciennes non accessibles sur les bases/banques de données existantes.

## 2- Secrétariat scientifique

*Razafintsoa N, Rajerison F*

La production de documents assistée par ordinateur pour l'IPM représente la quasi-totalité des tâches dévolues au secrétariat :

- Rapport d'activités de l'IPM
- Contribution à l'organisation des événements : formation, atelier, cours, conseil de perfectionnement
- Mise à jour des pages Web du site internet de l'IPM
- Assistance aux autres services/unités.

---

---

**Publications, Communications,  
Thèses, Mémoires, Missions scientifiques,  
Conférences, Parlures, Visiteurs**

---

---

## *Publications*

- **Andriamanantena TS, Ratsima E, Rakotonirina HC, Randrianirina F, Ramparany L, Carod JF, Richard V, Talarmin A.** Dissemination of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* in various hospitals of Antananarivo Madagascar. *An Clinic Microbio Antimicrobials* 2010; **9** :17.
- **Andriamandimby SF, Randrianarivo-Solofoniaina AE, Jeanmaire EM, Ravololomanana L, Razafimanantsoa LT, Rakotojoelinandrasana T, Razainirina J, Hoffmann J, Ravalohery JP, Rafisandratanantsoa JT, Rollin PE, Reynes JM.** Rift Valley fever during rainy seasons, Madagascar, 2008 and 2009. *Emerg Infect Dis* 2010; **16** : 963-970.
- **Andrianaivolambo L, Domarle O, Randrianarivelojosia M, Ratovonjato J, Le Goff G, Talman A, Ariey F, Robert V.** Anthropophilic mosquitoes and malaria transmission in the eastern foothills of the central highlands of Madagascar. *Acta Trop* 2010; **116** : 240-245.
- **Andriatahina T, Randrianirina F, Ratsima Hariniana E, Talarmin A, Raobijaona H, Buisson Y, Richard V.** High prevalence of fecal carriage of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric unit in Madagascar. *BMC Infect disease* 2010; **10** : 204.
- **Andriantsoanirina V, Bouchier C, Tichit M, Jahevitra M, Rabearimanana S, Randrianjafy R, Ratsimbaoa A, Mercereau-Puijalon O, Durand R, Ménard D.** Origins of the recent emergence of *Plasmodium falciparum* pyrimethamine resistance alleles in Madagascar. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; **54** : 2323-2329.
- **Andriantsoanirina V, Ménard D, Rabearimanana S, Hubert V, Bouchier C, Tichit M, Bras JL, Durand R.** Association of microsatellite variations of *Plasmodium falciparum* Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger (Pfnhe-1) gene with reduced in vitro susceptibility to quinine: lack of confirmation in clinical isolates from Africa. *Am J Trop Med Hyg* 2010; **82** : 782-787.
- **Andriantsoanirina V, Ménard D, Tuseo L, Durand R.** History and current status of *Plasmodium falciparum* antimalarial drug resistance in Madagascar. *Scand J Infect Dis* 2010; **42** : 22-32.
- **Andriantsoanirina V, Ratsimbaoa A, Bouchier C, Tichit M, Jahevitra M, Rabearimanana S, Raherinjafy R, Mercereau-Puijalon O, Durand R, Ménard D** Chloroquine clinical failures in *Plasmodium falciparum* malaria are associated with mutant Pfm<sup>dr</sup>-1, not Pfc<sup>rt</sup> in Madagascar. *PLoS One* 2010; **5** : e13281.
- **Anyamba A, Linthicum KJ, Small J, Britch SC, Pak E, de La Rocque S, Formenty P, Hightower AW, Breiman RF, Chretien JP, Tucker CJ, Schnabel D, Sang R, Haagsma K, Latham M, Lewandowski HB, Magdi SO, Mohamed MA, Nguku PM, Reynes JM, Swanepoel R.** Prediction, assessment of the Rift Valley fever activity in East and Southern Africa 2006-2008 and possible vector control strategies. *Am J Trop Med Hyg* 2010; **83** : 43-51.
- **Breurec S, Poueme R, Fall C, Tall A, Diawara A, Bada-Alamedji R, Broutin C, Leclercq A, Garin B, Duval L, Fourment M, Nerrienet E, Rousset D, Sadeuh SA, Goodman SM, Andriaholinirina NV, Randrianarivelojosia M, Paul RE, Robert V, Ayala FJ, Ariey F.** African apes as reservoirs of *Plasmodium falciparum* and the origin and diversification of the *Laverania* subgenus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; **107** : 10561-10566.
- **Breurec S, Poueme R, Fall C, Tall A, Diawara A, Bada-Alamedji R, Broutin C, Leclercq A, Garin B.** Microbiological quality of milk from small processing units in Senegal. *Foodborne Pathog Dis* 2010; **7** : 601-604.
- **Gordon SN, Weissman AR, Cecchinato V, Fenizia C, Ma ZM, Lee TH, Zaffiri L, Andresen V, Parks RW, Jones KS, Heraud JM, Ferrari MG, Chung HK, Venzon D, Mahieux R, Murphy EL, Jacobson S, Miller CJ, Ruscetti FW, Franchini G.** Preexisting infection with human T-cell lymphotropic virus type 2 neither exacerbates nor attenuates simian immunodeficiency virus SIVmac251 infection in macaques. *J Virol* 2010; **84** : 3043-3058.
- **Haensch S, Bianucci R, Signoli M, Rajerison R, Schultz M, Kacki S, Vermunt M, Weston DA, Hurst D, Achtman M, Carniel E, and Bramanti B.** Distinct Clones of *Yersinia pestis* Caused the Black Death. *PLoS Pathog* 2010; **6** : e1001134.
- **Le Hello S, Watson M, Levy M, Marcon S, Brown M, Yvon JF, Missotte I, Garin B.** Invasive serotype 1

- Streptococcus pneumoniae* outbreaks in the South Pacific from 2000 to 2007. *J Clin Microbiol* 2010; **48** : 2968-29671.
- **Maïga-Ascofaré O, Le Bras J, Mazmouz R, Renard E, Falcão S, Broussier E, Bustos D, Randrianarivojosia M, Omar SA, Aubouy A, Lepère JF, Jean-François V, Djimé AA, Clain J.** Adaptive differentiation of *Plasmodium falciparum* populations inferred from single-nucleotide polymorphisms (SNPs) conferring drug resistance and from neutral SNPs. *J Infect Dis* 2010; **202** : 1095-10103.
  - **Ménard D, Barnadas C, Bouchier C, Henry-Halldin C, Gray LR, Ratsimbasoa A, Thonier V, Carod JF, Domarle O, Colin Y, Bertrand O, Picot J, King CL, Grimberg BT, Mercereau-Puijalon O, Zimmerman PA** *Plasmodium vivax* clinical malaria is commonly observed in Duffy-negative Malagasy people. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; **107** : 5967-5971.
  - **Mercereau-Puijalon O, Ménard D** *Plasmodium vivax* and the Duffy antigen: a paradigm revisited *Transfus Clin Biol* 2010; **17** : 176-183.
  - **Morelli G, Song Y, Mazzoni CJ, Eppinger M, Roumagnac P, Wagner DM, Feldkamp M, Kusecek B, Vogler AJ, Li Y, Cui Y, Thomson NR, Jombart T, Leblois R, Lichtner P, Rahalison L, Petersen JM, Balloux F, Keim P, Wirth T, Ravel J, Yang R, Carniel E, Achtman M.** *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat Genet* 2010; **42** : 1140-1143.
  - **Rahelinirina S, Duplantier JM, Ratovonjato J, Ramilijaona O, Ratsimba M, Rahalison L.** Study on the movement of *Rattus rattus* and evaluation of the plague dispersion in Madagascar. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2010; **10** : 77-84.
  - **Rahelinirina S, Léon A, Harstskerl RA, Sertour N, Ahmed A, Raharimanana C, Ferquel E, Garnier M, Chartier L, Duplantier JM, Rahalison L & Cornet M.** First Isolation and Direct Evidence for the Existence of Large Small-Mammal Reservoirs of *Leptospira sp* in Madagascar. *PLoS One* 2010; **5** : e14111.
  - **Rakotomanana F, Ratovonjato J, Randremanana R, Randrianasolo L, Raheinjafy R, Rudant Jp, Richard V.** Geographical and environmental approaches to urban malaria in Antananarivo (Madagascar). *BMC Infectious Diseases* 2010; **10** : 173.
  - **Rakotosamimanana N, Raharimanga V, Andriamandimby SF, Soares JI, Doherty TM, Ratsitorahina M, Ramarokoto H, Zumla A, Huggett J, Rook G, Richard V, Gicquel B, Rasolofo V, Ramarokoto H, Ratsirahonana O, Soares JL, Ravaosolo J, Ravololonandriana P, Rakotoarisaonina A, Ranjalaly G, Ranaivohajaina S, Mosa M, Robinson R, Ratsitorahina M, Rasolofo V, Rarivoson B.** First national survey of *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance, Madagascar. *Int J Tuberc Lung Dis* 2010; **6** : 745-750.
  - **Randremanana R, Richard V, Rakotomanana F, Sabatier P, Bicout D.** Bayesian mapping of pulmonary tuberculosis in Antananarivo, Madagascar. *BMC Infectious Diseases* 2010; **10** : 21.
  - **Randrianasolo L, Raelina Y, Ratsitorahina M, Ravolomanana L, Andriamandimby S, Heraud JM, Rakotomanana F, Ramanjato R, Randrianarivo-Solofoniaina AE, Richard V.** Sentinel surveillance system for early outbreak detection in Madagascar. *BMC Public Health* 2010; **10** : 31.
  - **Randrianirina F, Andriatahina T, Talarmin A, Raobijaona H, Buisson Y, Richard V.** High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae carriage in a pediatric unit in Madagascar. *BMC infection disease* 2010; **10** : 204.
  - **Randrianirina F, Vaillant L, Ramarokoto Ce, Rakotoarijaona A, Andriamanarivo MI, Razafimahandry Hc, Randrianomenjanahary J, Raveloson JR, Ratsima Hariniaina E, Carod Jf, Talarmin A, Richard V.** Antimicrobial resistance in pathogens causing nosocomial infections in surgery and intensive care wards of two hospitals in Antananarivo, Madagascar. *J Infect Dis Control* 2010; **4** : 74-82.
  - **Rasolofo Razanamparany V, Ramarokoto H, Ratrimoarivony C, Andriantsimietry S, Razanakotomalala V, Rakotondrasoa S, Raharisolo C, Rasolonavalona T, Vololoarinosinjatovo M, Cole ST, Honoré N.** Faisabilité du diagnostic moléculaire de la résistance de *Mycobacterium leprae* à la rifampicine à Madagascar. *Bull Acad Malg* 2006 (2010); **2**.
  - **Rasolofo Razanamparany V, Raharimanga V, Andriamandimby SF, Ratsitorahina M, Ramarokoto H, Soares JL, Richard V.** Infection tuberculeuse chez les sujets contacts de patients tuberculeux pulmonaires



à Antananarivo. *Bull Acad Malg* 2006 (2010); 2.

- **Razafimandimbison SG, Appelhans MS, Rabarison H, Haevermans T, Rakotondrafara A, Rakotonandrasana SR, Ratsimbason M, Labat JN, Kessler PJ, Smets E, Cruaud C, Couloux A, Randrianarivejosia M** Implications of a molecular phylogenetic study of the Malagasy genus *Cedrelopsis* and its relatives (*Ptaeroxylaceae*). *Mol Phylogenet Evol* 2010; **57** : 258-265.
  - **Razanamparany and the VACSEL/VACSYS Study Group.** Variation in gamma interferon responses to different infecting strains of *Mycobacterium tuberculosis* in acid-fast bacillus smear-positive patients and household contacts in Antananarivo, Madagascar. *Clin Vaccine Immunol* 2010; **7** : 1094-1103.
  - **Tantely ML, Tortosa P, Alout H, Berticat C, Berthomieu A, Rutee A, Dehecq JS, Makoundou P, Labbé P, Pasteur N, Weill M.** Insecticide resistance in *Culex pipiens quinquefasciatus* and *Aedes albopictus* mosquitoes from La Réunion Island. *Insect Biochem Mol Biol* 2010; **40** : 317-324.
  - **Telfer S, Brouat C, Duplantier JM, Rahelinirina S, Rahalison L.** Plague epidemiology and risk in the heterogeneous rural landscapes of Madagascar. *Vector-Borne Zoo Diseases* 2010; **10** : 98-99.
  - **Tollenaere C, Brouat C, Duplantier JM, Rahalison L, Rahelinirina S, Pascal M, Moné H, Mouahid G, Leirs H, Cosson J.** Phylogeography of the invasive species *Rattus rattus* in the western Indian Ocean, with special emphasis on the colonization history of Madagascar. *J Biogeography* 2010; **37**: 398-410.
  - **Tollenaere C, Rahalison L, Ranjalahy M, Duplantier JM, Rahelinirina S, Telfer S, Brouat . 2010b** Susceptibility to *Yersinia pestis* : Experimental Infection in Wild *Rattus rattus*, Reservoir of Plague in Madagascar. *EcoHealth* 2010; **7** : 242-247.
-

## Communications

### ORALE

- **Orelle A.** *Influenza Surveillance in Madagascar and Flu Outbreaks.* WHO Meeting of the Africa Flu Alliance. Marrakech - Maroc 03-04 juin.
- **Raharisolo Vololonantenaina CR.** *Prise en charge anatomopathologique du carcinome basocellulaire.* Premières journées de Stomatologie et Chirurgie maxillofaciale . Antananarivo – Madagascar 22 – 24 juin.
- **Raharisolo Vololonantenaina CR, Ravoniarimbina P, Ramarokoto CE, Ravaoalimalala VE, Vennervald B, Poggensee G, Feldmeier H, Richter J.** *Female genital schistosomiasis. Effects praziquantel's treatment on signs and symptoms inflammation.* Female genital Schistosomiasis, Kick-off Workshop. Scandic Copenhagen, Denmark 27-30 octobre.
- **Raharisolo Vololonantenaina CR, Randrianasolo BS, Ravoniarimbina P, Ramarokoto CE, Rakotoniaina NM, Rakotomanana F, Ravaoalimalala VE, Vennervald B, Gundersen SG, Leutscher P, Kjetland EF.** *Female Genital Schistosomiasis (FGS) Kick-off Workshop.* Female genital Schistosomiasis, Kick-off Workshop. Scandic Copenhagen, Denmark 27-30 octobre.
- **Ramarokoto H, Rakotoarisaonina A, Ravaosolo J, Ranjalahy G.** *Evaluation de la Stratégie de circuit de lames Tuberculose à Madagascar. 41ème Conférence Mondiale de l'Union sur la Santé Respiratoire.* Berlin, Allemagne 11 novembre.
- **Orelle A.** *Surveillance virologique de la grippe et des autres maladies virales respiratoires- leçons apprises et défis.* 3ème Réunion des Centres Nationaux pour la Grippe dans la Région Africaine. Lusaka - Zambie 16- 18 novembre.
- **Orelle A.** *Laboratoire de niveau de confinement III aux pays en développement - Opportunités et Défis.* 3ème Réunion des Centres Nationaux pour la Grippe dans la Région Africaine. Lusaka - Zambie 16- 18 novembre.
- **Ramarokoto H, Rakotonomenjanahary M, Ranjalahy G.** *Situation épidémiologique de la TB-MR à Madagascar. Réunion Nationale sur les Infections Respiratoires Basses et MDR- Tuberculose, Groupe des Etats d'Afrique, des Caraïbes et du Pacifique et la* Fondation Mérieux. Centre d'Infectiologie Christophe Mérieux, Antananarivo 26 novembre.
- **Ramarokoto H, Rakotonomenjanahary M, Ranjalahy G.** *Impact de la conservation et des conditions de transport de crachats sur les résultats d'antibiogrammes. Réunion Nationale sur les Infections Respiratoires Basses et MDR- Tuberculose, Groupe des Etats d'Afrique, des Caraïbes et du Pacifique et la Fondation Mérieux.* Centre d'Infectiologie Christophe Mérieux, Antananarivo 26 novembre.
- **Rasolofo V, Ramarokoto H.** *Méthodes de détection de la tuberculose multirésistante (TB-MR) disponibles à Madagascar. Réunion Nationale sur les Infections Respiratoires Basses et MDR- Tuberculose, Groupe des Etats d'Afrique, des Caraïbes et du Pacifique et la Fondation Mérieux.* Centre d'Infectiologie Christophe Mérieux, Antananarivo 26 novembre.
- **Said Tohir AHO, Ramarokoto H, Rasolofo V.** *Development and evaluation of an immunomagnetic separation-PCR for the detection of Mycobacterium tuberculosis in samples.* 2nd International Conference on «Neuroinfection and worldwide impact»(IANIS), La Réunion 2-6 décembre.
- **Héraud JM.** *GISN Development, more timeliness; a view from NIC Madagascar.* 3rd global NIC Meeting. Hammamet - Tunisie 30 novembre -3 décembre.
- **Orelle A.** *Outbreak Investigation : an H1N1(2009) example.* Closure Meeting of the DHHS-IP Agreement. Antananarivo - Madagascar 07- 10 décembre.
- **Héraud JM.** *Surveillance of Respiratory Viruses, a global approach in Humans and animals.* Closure Meeting of the DHHS-IP Agreement. Antananarivo - Madagascar 07- 10 décembre.
- **Rasolofo Razanamparany V.** *Tuberculosis multidrug resistance study in Madagascar. 3rd Annual GABRIEL meeting (Fondation Mérieux).* Les Pensières, Annecy - France 15-17 décembre.
- **Rajerison M, Rahalison L.** *Laboratory Diagnosis of Plague.* Pérou.
- **Rahelinirina S.** *Rodent surveillance in Madagascar.* Pérou.

## AFFICHÉES

- **Ravaoarisoa E, Randrianariveლოსია M, Jahevitra M, Zamanka H, Mattei D, Bedouelle H, Fandeur T.** *Third annual Genomic Epidemiology of Malaria meeting.* Wellcome Trust Genome Campus, Hinxton – UK June 9th-12th.
- **Gousseff M, Randrianirina F, Ratsima Hariniaina E, Razafindratsimandresy R, Randremanana R, Talarmin A, Richard V.** *Diarrhées infantiles communautaires en milieu tropical, étude cas/témoins.* XI<sup>e</sup> Journées Nationales d'Infectiologie. Montpellier - France 10-12 juin.
- **Rajatonirina S, Héraud JM, Rakotosolofo B, Rakotomanana F, Randrianasolo L, Ratsitoharina M, Raharinandrasana H, Richard V.** *Excess mortality associated to pandemic A(H1N1)v 2009 Influenza in Antananarivo, Madagascar.* Influenza Scientific Symposium, Atlanta - USA 8-10 juillet.
- **Razanajatovo N,** *Tracking Pandemic influenza (H1N1) 2009 in Madagascar; Lesson learned from an influenza sentinel surveillance system. Options VII for the Control of Influenza.* Hong Kong - SAR China 3-7 septembre.
- **Raharisolo Vololonantenaina CR, Randrianasolo BS, Ravoniarimbina P, Ramarakoto CE, Rakotoniaina NM, Rakotomanana F, Ravaoalimalala VE, Vennervald B, Gundersen SG, Leutscher P, Kjetland EF.** *Female genital schistosomiasis due to schistosoma haematobium. Cytological findings in women in hyperendemic villages of Madagascar.* ASTMH fifty-ninth annual meeting Atlanta Marriott Marquis, Hotel Hilton Atlanta 7 novembre.
- **Rajatonirina S, Randrianasolo L, Héraud JM, Ravalolomanana L, Randrianarivo A, Richard V.** *Tendances saisonnières de la grippe à Madagascar – Analyse des séries temporelles des données de surveillance sentinelle.* IV congrès international d'épidémiologie. Marseille - France 15-17 septembre.
- **Rajatonirina S, Rakotosolofo B, Rakotomanana F, Richard V.** *Impact de l'épidémie du virus A(H1N1)v sur la mortalité, Antananarivo, Madagascar, 2009.* IV congrès international d'épidémiologie. Marseille - France, 15-17 septembre.
- **Rakotomanana F, Rakotoarison N, Ranivoarisoa S, Ralaiarinoro H, Ratsitorahina M, Richard V.** *Changement climatique et maladies à potentiel épidémiologique : contribution des données satellitaires de substitution dans la surveillance épidémiologique.* IV<sup>ème</sup> Congrès International d'Epidémiologie, "Du Nord au Sud" et XVI<sup>ème</sup> actualité du Pharo. Pharo - Marseille 15-17 septembre.
- **Randremanana RV, Randriamanantena A, Rakotomanana F, Sabatier P, Bicout DJ, Richard V.** *Apport des outils de modélisation spatiale dans l'identification des zones à risque de tuberculose pulmonaire à Antananarivo, Madagascar.* IV<sup>ème</sup> congrès international d'Epidémiologie "Du Nord au Sud" et XVI<sup>ème</sup> Actualités du Pharo. Pharo - Marseille 15-17 septembre.
- **Ramarakoto CE.** *Ultrasonographical examination of the upper genital tract in women with high intensity of Schistosoma haematobium infection.* Female genital Schistosomiasis, Kick-off Workshop. Scandic Copenhagen, Denmark 27-30 octobre.
- **Raharimanga V.** *Perception of the clinical and colposcopic investigations with biopsy-taking.* Female genital Schistosomiasis, Kick-off Workshop.. Scandic Copenhagen, Denmark 27-30 octobre.
- **Rakotomanana F.** *Climate information and user perspective for health sector. Commission for Basic System Technical Conference (CBS-TECO): "End-to-End Service Delivery : from observations to services, the way users need them".* Organisé par l'Organisation Mondiale de la Météorologie. Windhoek - Namibia 19-20 novembre.
- **Andrianaranjaka V, Ranarivelo LA, Dadare A, Raherinjafy R, Rabearimanana S, Ramarosandratana B, Tafangy P, Randrianariveლოსია M.** *Further evidence for malaria elimination failure on the Island of Sainte Marie (Madagascar).* Annual Scientific Meeting of the Institut Pasteur International Network. Hong Kong 22-23 November.
- **Razanajatovo N.** *Tracking Pandemic influenza (H1N1) 2009 in Madagascar. Lesson learned from an influenza sentinel surveillance system. 3rd global NIC Meeting.* Hammamet - Tunisie 30 novembre - 3 décembre.
- **Telfer S, Elissa N, Kreppel K, Rajerison M, Rahalison L.** *Plague epidemiology in Madagascar : spatial and temporal patterns.* British Ecological Society, Leeds-UK.
- **Kreppel K, Baylis M, Elissa N, Rajerison M, Telfer S.** *Microclimate effects on flea vectors of plague in Ma-*

Madagascar. British Ecological Society, Leeds - UK.

- **Telfer S, Elissa N, Kreppel K, Rajerison M, Rahalison L.** *Plague epidemiology in Madagascar : spatial and temporal patterns in flea populations.* 10<sup>th</sup> International Symposium on Yersinia. Recife - Brasil.

#### RENCONTRES CLINICO-BIOLOGIQUES

- *Helicobacter pylori et pathologie gastro-intestinales : stratégie diagnostique* (CHU JRA, janvier)

- *Le diagnostic de la neurocysticercose* (CHU JRA, janvier).

- *L'Emergence d'isolats cliniques d'Acinetobacter baumannii multirésistants au niveau hospitalier à Antananarivo* (Institut Médical de Madagascar, août).

- *Le manuel de prélèvement et les étapes pré-analytiques des analyses médicales* (CenHoSoa et CHU JRA, décembre).

---

## Thèses et Mémoires

- **Rakotosamimanana N.** Thèse de Doctorat de Sciences, Université d'Antananarivo et Université Paris 6 - *Diversité des souches cliniques de Mycobacterium tuberculosis à Madagascar : Impacts sur l'infection tuberculeuse.* Soutenu le 25 octobre.

- **Rafilipson VA.** Mémoire de DEA de Biochimie Appliquée aux Sciences Médicales. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo - *Polymorphisme des îlots*

*génomiques chez les souches cliniques de Mycobacterium tuberculosis.* Soutenu le 22 septembre.

- **Dubois N.** Mémoire de DU d'Insertion Professionnelle - Université de Nice Sophia Antipolis - *Utilisation de L'ADN extrait à partir de frottis sur lame pour le diagnostic moléculaire de la résistance chez Mycobacterium tuberculosis.* Soutenu, novembre.

## *Missions scientifiques, réunions et ateliers*

- **Elissa N, Tantely LM.** Réunion annuelle projet : RIFT - OI, Antananarivo. Madagascar (janvier).
- **Raharisolo Vololonantenaina CR.** *Atelier sur l'Appui au Programme de Lutte Contre le Cancer à Madagascar* : Hôtel IBIS – Antananarivo (12 février).
- **Elissa N.** Réunion Animal Risk RVF - Saint Denis - La Réunion (20 février au 26 mars).
- **Elissa N.** Réunion Faune Sauvage. St Denis - La Réunion (27 février au 3 mars).
- **Ramihangihajason T.** Mise en place d'une nouvelle méthode de suivi et de capture des micromammifères en forêt. Anorana. RIFT-OI (mars).
- **Raharisolo Vololonantenaina CR.** *Réunion de Consensus sur la prise en charge des cancers gynécologiques.* Hôtel Solimotel Anosibe - Antananarivo (4 mars).
- **Rasoloho V.** Réunion du consortium TB-VIR. Institut Pasteur Korea, Séoul, Corée (5 mars).
- **Raharisolo Vololonantenaina CR.** *Formation des Médecins sur le remplissage de la fiche de notification d'un cas de cancer.* Service de Lutte contre les Maladies Liées au Mode de Vie, Antananarivo – Ministère de la Santé (31 mars – 1 avril).
- **Raharisolo Vololonantenaina CR.** *Atelier de validation de la Politique Nationale de Contrôle et de Lutte contre les Cancers.* Motel Anosy Antananarivo (20 avril).
- **Raharisolo Vololonantenaina CR.** *Validation du Consensus sur la prise en charge des cancers gynécologiques* (22 avril).
- **Elissa N, Andrianaivolambo L.** Projet Animal Risk. Mise en place et première études. Mampikony et Toliara (avril-mai).
- **Ratovonjato J, Rakotoniaina JC, Tata E.** Projet RTI. Evaluation entomologique des CAID dans 3 sites des hautes Terres Ambohimahaso, Betafo et Ankazobe (Madagascar). Missions de 15 jours sur 5 mois de l'année de janvier à mai.
- **Rakotoniaina JC, Ramihangihajason T.** Collecte des *Ornithodoros moubata* dans le cadre du projet "Leptospiroses/Borrélioses" à Antanifotsy Antsirabe (mai).
- **Rahelinirina S.** Réunion ANR. Montpellier (7 mai).
- **Raharisolo Vololonantenaina CR.** *Table ronde sur le projet de Lutte contre les Cancers gynécologiques à Madagascar.* Hôtel Carlton - Antananarivo (15 mai).
- **Orelle A.** 1st AfriFlu Meeting : Conférence Internationale sur la Grippe en Afrique, Marrakech, Maroc (01-02 juin).
- **Orelle A.** WHO Meeting of the Africa Flu Alliance, Marrakech, Maroc (03-04 juin).
- **Rahelinirina S.** Réunion du groupe de travail sur la leptospirose. Paris (8-9 juin).
- **Richard V.** Influenza Scientific Symposium, Atlanta, USA (8-10 juillet).
- **Héraud JM.** CDC Influenza Division International Partners & Disease Burden Meeting, Atlanta, USA (9-11 juillet).
- **Héraud JM.** International Conference on Emerging Infectious, Atlanta, USA (11-14 juillet).
- **Razafindratsimandresy R, Rabemanantsoa S.** Polio and Measles/Yellow Fever Laboratories Directors/ Technical Supervisors and Data Managers Workshops, Harare, Zimbabwe (12-16 juillet).
- **Elissa N, Ratovonjato J, Andrianaivolambo L, Rakotoniaina JC, Tata E.** Projet IDE-JETRO. Foulpointe - Toamasina (août et décembre).
- **Héraud JM, Razanajatovo N.** Options VII for the Control of Influenza, Hong Kong, SAR China (3-7 septembre).
- **Rajerison M, Rahelinirina S.** Assistance technique et Formation sur le test de diagnostic de la peste. Pérou (09-25 août).
- **Elissa N, Andrianaivolambo L.** Enquête autour de cas

- probables de RVF à Toliara (27 septembre-3 octobre).
- **Elissa N, Ratovonjato J, Andrianaivolambo L.** Projet Nouveaux Insecticides. Missions de prospections à Moramanga (octobre).
  - **Randriamaherijaona S.** Field School en forêt (sous la direction de Steeve Goodman, VAHATRA). Lakato (octobre).
  - **Rasolofo V.** Réunion des participants du projet TB-Hits (ANR-MIE). INSERM U873, Université Paris-Diderot (9 octobre).
  - **Ravaoalimalala VE, Ravoniarimbina P, Raharimanga V, Ramarokoto CE, Raharisoalo Vololonantenaina C, Randrianasolo B.** Atelier de restitution sur les bilharzioses génitales chez la femme. Copenhague Danemark (27-30 octobre).
  - **Randriamaherijaona S.** Inventaire des ectoparasites de micromammifères de forêt (dans le cadre de son DEA). Maromizaha (novembre).
  - **Rasolofo V, Ramarokoto H.** 41<sup>ème</sup> Conférence Mondiale de l'Union sur la Santé Respiratoire. Berlin, Allemagne. (11-15 novembre).
  - **Orelle A.** 3<sup>ème</sup> Réunion des Centres Nationaux pour la Grippe dans la Région Africaine, Lusaka, Zambie (16-18 novembre).
  - **Rasolofo V, Ramarokoto H.** Réunion Nationale sur les Infections Respiratoires Basses et MDR - Tuberculose, Groupe des Etats d'Afrique, des Caraïbes et du Pacifique et la Fondation Mérieux. Centre d'Infectiologie Charles Mérieux, Antananarivo (26 novembre).
  - **Héraud JM.** 3rd global NIC Meeting, Hammamet, Tunisie (30 novembre - 3 décembre).
  - **Ramihangihajason T.** Projet Faune Sauvage. Ankazomivady (décembre).
  - **Tantely LM, Rakotoniaina JC, Tata E, Andrianaivolambo L, Elissa N.** Projet RIFT OI. Missions de 15 jours sur 6 mois de l'année de janvier à mars, juin, novembre et décembre.
  - **Ramarokoto H.** Revue annuelle du Programme National de Lutte contre la Tuberculose. Moramanga, Madagascar (8-10 décembre).
  - **Ramarokoto H.** Réunion sur la définition du rôle des secteurs privés dans la lutte contre la tuberculose. Motel Anosy, Antananarivo (14 décembre).
  - **Rasolofo V.** 3<sup>ème</sup> Réunion annuelle du réseau GABRIEL de la Fondation Mérieux. Les Pensières, Annecy, France (15-17 décembre).
-

## Conférences

Des conférences sont ouvertes à tous les scientifiques de Madagascar qui souhaitent présenter un travail ou une mise à jour originale dans le domaine des maladies infectieuses et plus largement de la biologie médicale à Madagascar. Par ailleurs, chaque scientifique extérieur en mission ou de passage à Antananarivo est invité à présenter une conférence, qui dans ce cas, intervient en supplément du programme initial.

### 15 janvier :

*Adaptation génétique des Anophèles à l'environnement* par **Fontenille D** (IRD Montpellier).

### 21 septembre :

*Antimicrobial susceptibility testing for plague* par **Brook Y** (Center for Disease Control CDC).

### 22 septembre :

*Investigation of a plague outbreak* par **M Ratsitorahina** (Institut Pasteur de Madagascar IPM).

### 23 septembre :

*Epidemiology of plague in Africa* par **AThomas** (World Health Organization WHO).

---

## Parlures

Il s'agit d'exposés techniques organisés au sein de l'Institut Pasteur de Madagascar.

### 10 mars :

*Paludisme, artesunate et drepanocytose : tout est il question de calcium ?* par **Jambou R**.

### 1<sup>er</sup> avril :

*Les pathologies de la crevette : méthodes de diagnostic - Hybridation in situ* par **Ratsimbazafy N**.

### 7 avril :

*Epidémiologie des diarrhées communautaires infantiles à Madagascar : résultats et leçons de l'étude transversale multicentrique 2008-2009* par **Gousseff M**.

### 11 juin :

*Diagnostic moléculaire des pathologies de la crevette* par **Trompette W**.

### 7 juillet :

*Effet de la température et de l'humidité sur le développement des principaux vecteurs de la peste à Madagascar* par **Kreppel K**.

### 25 septembre :

*Etude de *Vibrio nigripulchritudo*, pathogène associé à certains épisodes de mortalité chez la crevette d'élevage *Penaeus monodon** par **Hoarau J**.

### 13 octobre :

*Diversité des souches *Mycobacterium tuberculosis* à Madagascar. Impacts sur l'infection tuberculeuse* par **Rakotosamimanana N**.

### 27 octobre :

*Utilisation de l'ADN extrait à partir de frottis sur lame pour le diagnostic moléculaire de la multirésistance (MDR) chez *Mycobacterium tuberculosis** par **Dubois N**.

### 3 novembre :

*Génotypage des souches *Mycobacterium tuberculosis* isolées à Madagascar par la méthode des MIRU-VNTR* par **Rasoahanitralisoa R**.

### 18 novembre :

*Toward new RDTs for *Neurocysticercosis** par **Guebey R**.

### 29 novembre :

*Apport des prélèvements sur papiers buvards pour la surveillance de la circulation du virus *Chikungunya* à Madagascar* **Andriamandimby SF**.

# Visiteurs

- **CRVOI - La Réunion**
    - Dr Eric Cardinal
  - **SUMITHOMO**
    - Hirochi TANAKA, Team Leader, Marketing Department, Vector Control Division, Japon
    - Shohei YASUDA, Project Manager, Communicable Disease Control Department, Japon
    - Minoru MORITA, Manager, Chemicals and Plastic Division, Afrique du Sud
    - Hugues RANJOANINA, Directeur Général Adjoint, Madagascar
  - **Pr Yasuyuki SAWADA**, Faculté d'Economie, Université de Tokyo, Japon
  - **Dr Sato CHIZUKO**, African Studies Group, Institute of Developing Economies, Japon
  - **PROCHIMAD** : Fidimalala Andriatsihoarana, Directeur de Département
  - **Dr Didier FONTENILLE**, IRD – Montpellier, UR 016 Caractérisation et contrôle des populations de vecteurs
  - **Pr Matthew BAYLIS**, Climate and Infectious Diseases of Animals group, Liverpool University
  - **SYNGENTA**
    - Andrew Irven, Regional Manager, Southern Africa Vector Control, Afrique du Sud
    - Anselme Ranarivelo, Madagascar
  - **AGRIPHAR** : Marc Dubois ; Alain Randrianasolo ; Harold van der Valk, Environmental toxicology, Pesticide Management
  - **CIRAD** – France : Dr Véronique Chevalier,
  - **OMS Genève** : Dr Eric Bertherat
  - **CDC/RTI** : M. Ray Beach
  - **Délégation de l'ambassade de France**
    - Mr Jean Marc Chataignier, Ambassadeur
    - Mr Bruno Meslet, conseiller régional de coopération santé.
  - **Pr Fadila BOULAHBAL** : Laboratoire Supranational de Référence, Institut Pasteur d'Alger. Evaluation du Centre National de Référence des Mycobactéries.
-



# Activités et projets de recherche 2011

Activités et Projets de recherche	Unité Epidemio	Unité Viro	Unité Entomo	Unité Immuno	Unité myco	Unité Palu	Unité Peste	Unité Bilharziose	Unité de Bactériologie expérimentale	CBC	LHAE	LES	Financements
Surveillance sentinelle	X	X	X			X							(USAID, DHHS, Global Fund, Ministère de la santé français
Etude Campylo -Diarrhées	X	X								X	X		IPM
Diarrhées Cas/Témoin	X	X								X	X		Fondation TOTAL
Suivi - évaluation de la Distribution de Masse de Médicaments dans le cadre de la lutte contre les Maladies Tropicales Négligées								X					IPM (subvention Ministère de la Santé)
Enquêtes épidémiologiques : parasitologie et malacologie								X					IPM (subvention Ministère de la Santé)
Susceptibilité génétique aux infections mycobactériennes (TBGEN - PTR202)	X			X									PTR (IP)
Renforcement des capacités en essais cliniques tuberculose	X			X									EDCTP (UE)
Outils diagnostiques tuberculose				X									IPM
Tests moléculaires de résistance aux antituberculeux				X									Global Funds, Fondation Mérieux, IPM
Diversité des souches et nouvelles cibles thérapeutiques tuberculose				X									ANR-MIE
Diffusion Peste: vecteur		X				X							Wellcome Trust
Etude Réponse Immune (Peste)			X			X							IPM
climat et santé (Peste)	X	X				X							Wellcome Trust
Amélioration outils diagnostic de la peste						X							IPM
Infection maternofoetale - Projet JEREMI	X								X				Jeremi, IPM
Typage enzyme BLS en portage péditrique (en milieu communautaire et hospitalier)									X				IPM
Amélioration des outils diagnostic de la cysticerose			X										IPM
Collecte d'isolat pour QC d'outil de diagnostic					X								OMS
Biodiversité phylogéographie et dynamique évolutive de vecteurs d'arbovirus		X											ACIP
Fièvre de la vallée du Rift : RIFT OI		X	X										CRVOI
Inventaire des vecteurs de peste en zone selvatique			X										CRVOI/Faune Sauvage
Elevage de vecteurs (moustiques et puces) en insectarium			X										IPM
Investigations et indicateurs autour des cas déclarés de maladies vectorielles	X	X	X		X								FAO, IPM,
Renforcement des capacités pour combler les lacunes entre la recherche/développement et mise en œuvre des interventions de lutte contre les vecteurs			X										Fondation Bill & Melinda Gates, OMS
Evaluation de nouveaux insecticides pour la lutte antivectorielle			X										PROCHIMAD, OMS
Plan national de surveillance épidémiologique de <i>Vibrio parahaemolyticus</i>										X	X		Autorité Sanitaire Halieutique (ASH)
Surveillance et réponse à la grippe pandémique	X	X											CDC
Etiologies virales des Syndrome de détresse respiratoire aigues (CENHOSOA et Moaramanga)	X	X											CDC
Facteurs associés à la sévérité des infections par les virus grippaux dans les pays en développement	X	X		X					X				IMMI
Virus et Chauves-souris		X											IPM/ Madagascar Voakakajy
Surveillance animale de la Fièvre de la Vallée du Rift (FVR)		X	X										FAO
Recherche de réservoir sauvage du virus de la FVR		X	X										CIRAD, CRVOI
Arenavirus et Hantavirus chez des petits mammifères sauvages terrestres de Madagascar		X											ACIP/RIIP
Surveillance Paralysie Flasques Aigues (PFA)		X											OMS
Surveillance Rougeole		X											OMS
Etude Mosaïque de la Nutrition en cas de Diarrhée chez l'enfant	X												IPM
Tuberculose pulmonaire & flux des tuberculeux à Antanarivo	X												IPM
Etude de l'efficacité de traitements locaux de la Tungose	X												Médecin pour le Tiers-Monde (MTM)
Epidémiologie moléculaire des virus de la rougeole et de la rubéole		X											IPP / ACIP 2010
Recombinaison entre poliovirus et entérovirus humains du Groupe C		X											ANR-MIE
Anophèles et Etude des mécanismes de résistance aux insecticides			X										
Diagnostic de la Leptospirose				X									IPM
Projet-pilote Paludisme					X								IPP
Résistances Communautaires								X					IPM