



**INSTITUT PASTEUR
DE MADAGASCAR**

RAPPORT D'ACTIVITES 2006

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
Site Web www.pasteur.mg

Réseau International des Instituts Pasteur

SOMMAIRE

<i>Préambule</i>	
<i>Organigramme</i>	
<i>Adresses électroniques</i>	
<i>Liste du personnel</i>	

ACTIVITES DE RECHERCHE

- Paludisme	13
- Immunologie.....	23
- Peste	26
- Tuberculose et mycobactéries.....	33
- Maladies virales	39

ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

Activités des différents centres collaborateurs et laboratoires de référence

- Centre Collaborateur OMS pour la Peste	50
- Laboratoire National de Référence OMS pour la Poliomyélite	56
- Laboratoire National de Référence OMS pour la Rougeole.....	57
- Laboratoire National de Référence OMS pour la Grippe.....	58
- Laboratoire National de Référence des Mycobactéries	60
- Laboratoire National de Référence pour la Rage.....	61
- Laboratoire Central de la Bilharziose	62

Autres activités de santé publique

- Activités de Santé Publique du Groupe de Recherche sur le Paludisme.....	66
- Laboratoire pour les Arbovirus et les virus responsables des Fièvres Hémorragiques	68

ACTIVITES DE SERVICE

- Centre de Biologie Clinique	
• Laboratoire d'analyses médicales	74
• Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques	77
- Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement	78
- Centre International de Vaccination	81
- Centre de Traitement Antirabique	82
- Laboratoire Central de la Peste/Unité de production de bandelettes.....	83

ACTIVITES DE FORMATION

- Formations	88
- Enseignements	92
- Centre de Documentation Scientifique	95

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

<i>Publications</i>	99
<i>Communications</i>	102
<i>Thèses, mémoires</i>	104
<i>Missions scientifiques</i>	105
<i>Rapports techniques</i>	106
<i>Visiteurs</i>	107

Préambule

L'Institut Pasteur de Madagascar est un établissement de l'Institut Pasteur placé sous tutelle du Ministère de la Santé et du Planning Familial et reconnu d'utilité publique par le Gouvernement de la République Malgache.

Ce statut lui confère quatre missions principales : des activités de recherche directement appliquées aux priorités de santé nationales; des activités de santé publique par ses Centres de Référence OMS ou Nationaux, autorisant des missions d'expertises ou des interventions à la demande du Ministère de la Santé, des activités de formation et d'enseignement essentielles dans le contexte malgache, et des activités de service (Centre de Biologie Clinique, Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement, Centre International de Vaccination).

Après une année de transition en 2005, du fait de nombreux changements de cadres scientifiques, les activités scientifiques de l'IPM se sont accrues en 2006 surtout en terme de valorisation. Sur le plan équipements de nombreux investissements ont été réalisés aussi bien pour assurer une certaine sécurité au centre de biologie clinique que pour renouveler le matériel roulant. Par ailleurs, grâce à des financements du gouvernement japonais et de l'Agence Française de Développement, le laboratoire de formation polyvalente et le laboratoire d'épidémiologie de la filière crevette ont respectivement pu être aménagés.

Au cours de l'année 2006, les programmes de santé publique réalisés en partenariat avec le Ministère de la Santé, soutenus par des fonds de la Banque Mondiale, du Global Fund se sont déroulés. En 2007, quelques inquiétudes apparaissent avec l'arrêt des appuis financiers directs aux programmes en particulier pour la Banque Mondiale au profit d'un appui sectoriel santé. Sans soutien du Ministère de la Santé, certains laboratoires centraux (peste, bilharziose) pourraient voir leur activité fortement réduite.

Sur le plan social, l'année 2006 a été marquée par la négociation du nouvel accord d'établissement qui a été signé début 2007.

Au niveau des activités de recherche et de santé publique :

Dans le domaine du paludisme qui reste la première cause de morbidité et de mortalité à Madagascar, les activités de recherche à l'IPM restent très orientées vers une application directe aux programmes de santé publique. La cartographie de la résistance de Plasmodium falciparum aux antimalariques, dont les résultats sont très attendus par les différents acteurs de santé publique à Madagascar, financée par le Global Fund a pu être réalisée dans 6 sites sur 8 prévus. Elle s'achèvera en 2007 pour les études in vivo. Les programmes "indicateurs du paludisme" soutenus par la Banque Mondiale se sont achevés fin 2006.

Dans le domaine de la peste, Madagascar reste un des pays au monde déclarant le plus de cas. La surveillance de la peste humaine et animale est un axe majeur du programme national de lutte contre cette endémie. L'IPM est Centre Collaborateur OMS pour la peste, seul laboratoire de référence pour la confirmation biologique dans le pays, dont l'agrément a été reconduit par l'OMS en 2004 pour une période de quatre ans. L'année 2006 a été marquée par la poursuite de la diminution du nombre de déclarations de cas de peste à Madagascar. Par ailleurs un programme de recherche ANR sur le réservoir a été obtenu en collaboration avec l'IRD.

Les projets de recherche de l'Unité des Mycobactéries se sont orientés depuis 2003 vers le renforcement de ses capacités pour la réalisation d'études cliniques, que ce soit dans le domaine des essais

thérapeutiques ou des essais vaccinaux. Ceci implique d'une part, l'évaluation de nouveaux outils pour le diagnostic rapide de la tuberculose et pour le suivi de l'efficacité d'un traitement, et d'autre part, la recherche de marqueurs de l'immunité anti-tuberculeuse, utilisables dans l'évaluation de nouveaux vaccins, au sein des programmes VACSIS et EDCTP.

L'Unité de Virologie poursuit avec succès ses programmes d'étude des virus polio recombinants, et les compétences mises en place permettront de poursuivre ces activités dans le domaine encore peu exploré des entérovirus non poliomyélitiques. Une étude des génotypes de VIH et des gènes de résistance aux antirétroviraux a été réalisée sur des patients des Seychelles avec le soutien de la GTZ. L'épidémie d'arboviroses (dengue et Chikungunia) de Toamasina début 2006 a rendu plus aigüe la nécessité de relancer l'activité sur les arbovirus. Le financement d'un laboratoire de sécurité par la Banque Africaine de Développement avec le soutien du Ministère de la Santé et du Planning Familial ainsi qu'un programme de la Banque Mondiale sur la surveillance des arbovirus va permettre à l'IPM d'accélérer la reprise des activités dans le domaine des arbovirus.

Au niveau des activités de service, le Centre de Biologie Clinique a connu en 2006 un maintien de son activité. Il s'investit de plus en plus, grâce notamment au recrutement de deux médecins biologistes malgaches, dans plusieurs programmes orientés vers la santé publique, au premier rang desquels l'étude de la résistance bactérienne aux antibiotiques.

Installé dans ses nouveaux locaux depuis le mois de décembre 2003, le LHAE a eu fin 2006 une première visite d'accréditation par le COFRAC. Une contre-visite doit avoir lieu mi-2007. Cette unité reste disponible pour développer des activités supplémentaires dans le domaine agro-alimentaire à la demande du Gouvernement Malgache.

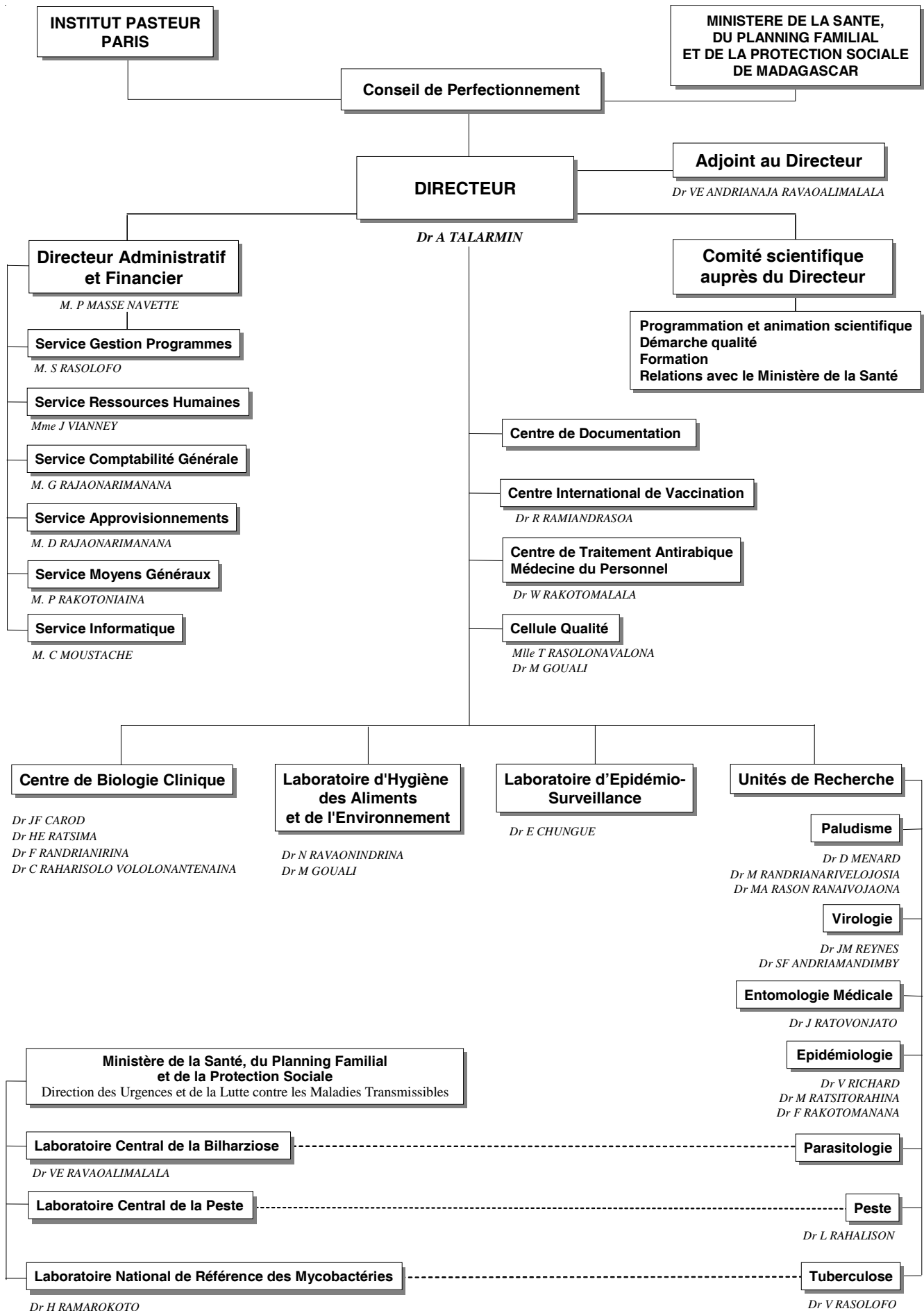
La démarche Qualité reste une priorité de l'IPM. Le retour de la responsable qualité après un an de formation à Tours va permettre d'accélérer le processus.

Les activités de formation et d'enseignement se sont poursuivies, parmi lesquelles il faut noter la pérennisation de l'Atelier International sur le Paludisme et la poursuite des Rencontres Clinico-Biologiques en partenariat avec les "Confrères de Mada". D'autre part, dans le cadre du renouvellement des cadres scientifiques malgaches de l'IPM, un accent particulier est mis sur le soutien des thèses de sciences à l'IPM en privilégiant les thèses en cotutelle par l'octroi de bourses pour les meilleurs étudiants.

En conclusion, l'IPM a considérablement investi en 2006 pour maintenir l'outil de travail à un niveau de performance répondant aux meilleurs standards. L'IPM est un partenaire scientifique compétent auprès du Ministère de la Santé et du Planning Familial, ce qu'ont bien compris les bailleurs de fonds de Madagascar qui, plus que jamais, lui font confiance. L'année 2006 devrait voir la poursuite des investissements avec l'installation du P3 et la construction d'un nouveau laboratoire pour les Mycobactéries au dessus de la Virologie mais aussi un accroissement des activités scientifiques et de formation. Cette dernière activité bénéficie désormais d'une ligne budgétaire particulière.

Docteur Antoine TALARMIN
Directeur de l'Institut Pasteur de Madagascar

Organigramme



Adresses électroniques

Institut Pasteur de Madagascar	ipm@pasteur.mg
Direction TALARMIN Antoine ANDRIANAHA RAVAOALIMALALA Vololomboahangy MASSE-NAVETTE Pascal	atalarmin@pasteur.mg andriv@pasteur.mg pmasse@pasteur.mg
Secrétariat de Direction RAJAONERA Lalao	lalao@pasteur.mg
Service Gestion Programme RASOLOFO Serge	srasolo@pasteur.mg
Service Ressources Humaines VIANNEY Jeannine	vianney@pasteur.mg
Service Informatique MOUSTACHE Christian RABENAIVO Celse RAKOTONDRAINY Sandy	moustach@pasteur.mg celse@pasteur.mg sandy@pasteur.mg
Centre de Documentation Scientifique RAZAFINDRAMBOLA Hary	hary@pasteur.mg
Centre International de Vaccination RAMIANDRASOA Ravo	vaccins@pasteur.mg
Dispensaire antirabique, médecine du personnel RAKOTOMALALA William	malala@pasteur.mg
Centre de Biologie Clinique CAROD Jean François RAHARISOLO VOLOLONANTENAINA Clairette CORRADI Elise RATSIMA Hariniaina Elisoa RANDRIANIRINA Frédérique	jfcarod@pasteur.mg claire@pasteur.mg ecorradi@pasteur.mg elisoa@pasteur.mg frederique@pasteur.mg
Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement RAVAONINDRINA Noro GOUALI Malika TAM TEON Yeelan	lhae@pasteur.mg nravaoni@pasteur.mg malikagouali@pasteur.mg yeelan@pasteur.mg
laboratoire d'Epidémiologie CHUNGUE Eliane RAZANAJATOVO Iony Manitra	echungue@pasteur.mg ionyr@pasteur.mg
Unité du Paludisme MENARD Didier RASON-RANAIVOJAONA Marie Ange RANDRIANARIVELOJOSIA Milijaona	palu@pasteur.mg dmenard@pasteur.mg mieange@pasteur.mg milijaon@pasteur.mg
Unité de Virologie REYNES Jean Marc HERAUD Jean Michel RAKOTO ANDRIANARIVELO Mala ANDRIAMANDIMBY Soa Fy	jmreynes@pasteur.mg jmheraud@pasteur.mg mala@pasteur.mg soafy@pasteur.mg
Unité d'Entomologie Médicale RATOVONJATO Jocelyn	ratov@pasteur.mg
Unité d'Epidémiologie RICHARD Vincent RATSITORAHINA Maherisoa RAMAROKOTO Charles RAKOTOMANANA Fanjasoa RANDREMANANA Rindra Vatosoa	vrichard@pasteur.mg mahery@pasteur.mg charlesr@pasteur.mg fanja@pasteur.mg rrandrem@pasteur.mg
Unité Peste/ Laboratoire Central de la Peste RAHALISON Lila	lrahalison@pasteur.mg
Unité Tuberculose / Laboratoire National de Référence des Mycobactéries RASOLOFO Voahangy RAMAROKOTO Herimanana	vrasolof@pasteur.mg herimana@pasteur.mg
Laboratoire Central de la Bilharziose ANDRIANAHA RAVAOALIMALALA Vololomboahangy RAVONIARIMBININA Pascaline	andriv@pasteur.mg pascaline@pasteur.mg

Personnel

Directeur

M. Antoine Talarmin, médecin biologiste des Hôpitaux

Adjointe au Directeur

Mme Vololomboahangy Ravaoalimalala, médecin

Directeur Administratif et Financier

M. Henri Landart

Secrétaire de direction

Mme Lalao Rajaonera

EQUIPE SCIENTIFIQUE

Centre de Biologie Clinique (CBC)

Chef de service

M. Jean François Carod, pharmacien biologiste

Adjoints

Cellule Anato-pathologie

Mme Clairette Raharisolo Vololonantenaina, médecin anatomopathologiste

Mme Narindra Rakotonanahary, médecin chargé des prélèvements génitaux

Cellule Biologie

Mme Elisoa Ratsima, médecin biologiste

Mme Frédérique Randrianirina, médecin biologiste

M. Jean Baptiste Chrétien, VIE

Surveillants

Mme Henriette Ramalahanoharana, technicienne supérieure

M. Randrianaivo Arsène, technicien qualifié

Techniciens

Mme Lucienne Razanoelina

M. Georges Ranaivo

Mme Fanja Brigitte Razanadrasoa

Mme Marie Lidwine Rasoamalala

Mme Eugénie Rambolatiana Rahasana

Mme Bénédicte Razanamialisoa

Mme Lantoso Miarana Ravololomboahangy

Mme Marie Adeline Raveloarilalao

Mme Odette Voahanginirina

Mme Mialimalala Razanaharinivo

Mme Hanitra Alice Raharison

Mme Bakoly Ramiadantsoa

Mme Marie Goretti Rasoamalala

Mme Francisca Razafiarisoa

M. Manantena Eddie Ramanantsoa

M. Hajalalaina Ramaherison

M. Mahenintsoa Rakotondrazaka

M. Nirina Ratrimosalama

Aide-techniciens

M. Nônô Randrianasolo

M. Mbolatiana Dani Randriamahandry

Personnels de laboratoire

M. Jean Pierre Ramangalahy

M. Joachim Rakotomalala

M. David Christie Andrianotohaina

M. Mamy Hugues Ranaivosoa

Personnels d'accueil et de secrétariat

Mme Nathalie Rabesahala

Mme Sahondra Randrianja

Mlle Fanja Eliane Randriaharilantsoa

Mme Hanitra Randriantafika

Mme Mamy Voahirana Ramanitriniony

Mme Hantarivelo Rakotomalala

Unité d'Entomologie

Chef d'Unité

M. Jocelyn Ratovonjato, médecin

Techniciens

M. Etienne Tata

M. Jean Claude Rakotoniaina

M. Rivo Razanampamonjy

Surveillant

M. Lala Andrianaivolambo, technicien supérieur

Personnel de laboratoire

M. Haja Johnson Velonirina

Unité d'Epidemiologie

Chef d'Unité

M. Richard Vincent, médecin

Adjoints

Mme Fanjasoa Rakotomanana, médecin, assistant de recherches

Coordonnateur

M. Maherisoa Ratsitorahina, médecin

Médecins assistants

M. Charles Emile Ramarokoto

Mme Rindra Vatosoa Randremanana

Mme Marie Laurence Randrianasolo

M. Arthur Dieudonné Randriamanantena

M. Arsène Ratsimbasa

Mme Vaomalala Raharimanga

Unité de Virologie

Chef d'Unité

M. Jean Marc Reynes, docteur vétérinaire

Adjoints

M. Mala Rakoto Andrianarivelo, médecin, chargé de recherches

Mme Soa Fy Andriamandimby, médecin

Surveillant

M. Désiré Andrianimanana, technicien

Techniciens

M. Nelson Seta Andriamamonjy

M. Girard Marcellin Razafitrimo

M. Herivelo Randriamanantena

Mme Sendraharimanana Rabemanantsoa

Mme Josette Elysée Razainirina

Mme Ravaoarisoa Rakoto Rakotomalala

M. Tsanta Rakotojoelinandrasana

Personnels de laboratoire

M. Léon Ratsimisetra

M. Désiré Rakotondramanana

M. Jules Ravalohery

M. Dodoly Alain Heriniaina

Unité Paludisme

Chef d'Unité

M. Didier Ménard, pharmacien biologiste

Adjoints

M. Milijaona Randrianariveolosia, scientifique, chargé de recherches

Mlle Lucie Raharimalala, médecin

Médecin sur programmes de recherches

Mme Marie-Ange Rason

Surveillante

Mme Emma Rakotomalala, technicienne supérieure

Secrétaires

Mlle Lantosoa Rasolofoharino

Mlle Sylvia Noroarisoa Rakotomalala

Techniciens

M. Hasinirina Rogelin Raheerinjafy

M. Martial Jahevitra

M. Herilalaina B Andrianantenaina

M. Tantely Mahefa Randriantsoa

Personnels de laboratoire

M. Tianasoa Andriamiandranoro

Unité des Mycobactéries

Chef d'Unité

Mme Voahangy Razanamparany, scientifique

Adjoint

M. Herimanana Ramarokoto, médecin, bi-appartenant

Médecin sur programme de recherches

Mme Rivoniaina Hantaholy Rakotondrasoa

Mme Voahangy Vololoniaina Razanakotomalala

Surveillante

Mlle Pascaline Ravololonandriana, technicienne de labo

Secrétaire

Mme Claudine Lydia Rakotonoël

Techniciens

M. Andry Toky Rakotoarivo

M. Basile Louis Razanajatovo

M. Antra Andriamiadamahatratra

Mme Elie Jeanne Vololonirina

Mme Rina Lalaina Ralaivelonjanahary

Personnels de laboratoire

M. René Harifetra Razanatsimba

M. Frédéric Guy Ranaivondramanga

Unité Peste

Chef d'Unité

Mme Lila Rahalison, scientifique

Adjoint

Mme Marie Laurette Ralimanantsoa, médecin

Responsable de la production des bandelettes

Mme Minoarisoa Esther Rajerison, scientifique

Surveillante

Mlle Claudine Raharimanana, technicienne de laboratoire

Techniciens (IPM)

M. Michel Ranjalaha

Mlle Voahangy Michel Andrianaivoarimanana

Techniciens du Ministère de la Santé et du Planning Familial

M. Mamy Ratsimba

Mme Lalao Angeline Ralafiarisoa

Mme Noromihaja Randriananja

Personnels de laboratoire

Mme Mariette Rasoasolotsara

Mme Delphine Razaiaisoa

M. Abel Patrick Andriambolamaro (IPM)

Unité Bilharziose

Chef d'Unité

Mme Vololomboahangy Ravaoalimalala, médecin, chargé de recherches

Adjoint

Mme Pascaline Ravoniarimbina, médecin, détaché du

Ministère de la Santé et du Planning Familial

Personnels détachés du Ministère de la Santé et du Planning Familial

Mme Sahondra Rasoanaivo, secrétaire

Mme Céline Lantoharisoa, technicienne de laboratoire

M. Clovis Norbertio Rasamilaza, technicien de laboratoire

M. Lalao Augustin Razanajatovo, garçon de laboratoire

Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement

Chef de laboratoire

M. Manutea Gay, ingénieur en microbiologie alimentaire

Adjoints

Mme Ravaonindrina Noro, médecin, responsable technique

Mlle Malika Gouali, pharmacienne, responsable qualité

Conseiller qualité en entreprise

Mme Tam Teon Yee Lan Hsiang

Surveillante

Mme Fanjasoa Razafindralambo

Secrétaires

Mme Doris Raveloniaina

Mme Irène Claudia Lalahaivony

Techniciens

M. Luc Arsène Andrianantara

M. Rivoson Rasolomandimby

M. Chrysostome Rahajason

M. Hiofa Brizon Laifolo

Mme Eliane Rajaomiarisoa

Mme Seheny Razanatsiorimalala

Mme Vero Ramiandrasoa

Mme Lantosoa Zoé Raharinivo

Mlle Clara Razafinandrasana

Agents de laboratoire

Mme Odile Raveloniaina

M. Edmond Randrianasolo

M. Frédérique Andriamamenosoa

M. Andry Ravojarahison

Préparateurs

M. Jean Charles Ramanantsoa

M. Robinson Ramarosan

Laboratoire d'Epidemio-Surveillance

Chef de laboratoire

Mme Eliane Chungue, scientifique, HDR

Technicien

M. Jeremy Botarafo

Unite Immunologie

Chef de l'Unité

M. Olivier Domarle

Centre de traitement antirabique / Médecine du personnel

Responsable

M. Tharcisius William Rakotomalala, médecin

Infirmier

M. Rakotonirina Maurice Ratavilahy

Centre International de Vaccination

Responsable

Mme Ramiandrasoa Ravoniaina, médecin

Centre de Documentation Scientifique

Secrétaires

M. Briand Blaise Randriarimanga, documentaliste

Mme Hary Cynthia Colombe Razafindrambola

Mme Nivo Mahery Razafintsoa

Mme Fara Haingotiana Rajerison

ADMINISTRATION ET SERVICE TECHNIQUE

Directeur Administratif et Financier

M. Henri Landart

Service des moyens généraux

M. Prosper Rakotoniaina, chef du service

M. Barinjaka Rabemalala, adjoint au chef de service

Adjoints

M. Serge Rasolofo, responsable gestion de programmes

Mme Jeannine R Vianney, chargé des ressources humaines

Chauffeurs

M. Rodolphe Razafindrabe

M. Joseph Randrianasy

M. Désiré Rakotonivelo

M. Gilbert Rakotoniaina

M. Richard Rajerison

M. Jean Alfred Rakotoarinelina

M. Olivier Randriambolona

Assistante au RH

Mme Annie Josiane Raholiarimalala

Secrétaire

Mme Harinivo Razafindravao

Central téléphonique

Mme Odile Robsona

M. Jeannot Razafindrabe

M. José Christian Razafimamonjy

Agents de sécurité

M. Manitra Rasaïa Rakotomandimby

M. Joël Yvon Razafilalaintsoa

M. Alphonse Rakotonimaro

M. Paul Randrianarison

M. Gilbert Rakotoarivony

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

Service de la comptabilité

M. Germain Rajaonarimanana, chef comptable

M. Félicien Razafimbelo, caissier en chef

Mlle Felana Ramorasata, cellule recettes

Mlle Brigitte Raharimalala, cellule recettes

Mlle Rasoanirina Justine, cellule recettes

Mme Razanamalala Verohanitra Yvonne, cellule dépenses

M. Rakotondrasoa Faly, cellule dépenses

Service Informatique

M. Christian Moustache, chef de service

M. Sandy Rakotondrainy, contrôleur de gestion

M. Celse Rabenaivo, contrôleur de gestion

Service des approvisionnements

M. Rajaonarimanana Dieudonné, responsable du service

M. Razafimandimby Amédée, agent de transit

M. Solofotiana Raharison, agent de transit

M. Daniel Solofo Harrison, magasinier

M. Solo Andrianantenaina, agent d'achat

M. Nirina Rakotonanahary, chargé des suivis de commandes

Cantine

M. Jean Michel Solo Rabefaniraka

M. Zakamanana Randrianjafy

M. Gaétan Emile Razafimaroso

Femmes de ménage

Mme Anne Marie Ravelonoro
Mme Perline Rahantamalala
Mlle Hantanirina Solo Rakotovao
Mme Eméline Rasamoelisoa

Agents d'entretiens

M. Lemampandry Ramanandraivonona, incinérateur
M. Josoa Rabemanantsoa, électricien en chef
M. Germain Rakotomalala, plombier/électricien
M. Patrick Razafindrabe, plombier/électricien
M. Richard Rakotondrainibe, chef de travaux
M. Jean Fête Rakotonirina, menuisier
M. Tiana Rakotoniariovo, menuisier
M. Rolland Augustin, soudeur
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. Joely Razafilalaintsoa
M. Jacobson JM Andriamihaja
M. Seth Rambelosen
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

ACTIVITES DE RECHERCHE

Considérations générales

Placé sous la tutelle du Ministère de la Santé et du Planning familial, 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.

PALUDISME

RESPONSABLES SCIENTIFIQUES

- **D Ménard**, pharmacien biologiste, chef de l'Unité du Paludisme
- **M Randrianarivojosia**, scientifique, **L Raharimalala Andrianavalona**, médecin, adjoints au chef de l'Unité du Paludisme

SCIENTIFIQUES ASSOCIÉS

- **D Raveloariseheno**, **V Rabekotonirina**, **H Ranaivoson**, **DI Ralaizandriny**, médecins contractuels, GF3
- **J Ratovonjato**, médecin, Unité d'Entomologie médicale
- **O Domarle**, scientifique, chef de l'Unité d'Immunologie
- **JL Soares**, médecin, chef de l'Unité d'Epidémiologie
- **L Rabarijaona**, médecin, adjoint au chef l'Unité d'Epidémiologie
- **A Ratsimbasoa**, **L Randrianasolo**, **A Randriamanantena**, médecins, Unité d'Epidémiologie
- **F Rakotomanana**, médecin, responsable de la Cellule de Système d'Information Géographique
- **RV Randremana**, médecin, Cellule de Système d'Information Géographique

COLLABORATIONS

Locales

- **M Mosa**, directeur DULMT, Ministère de la Santé et du Planning Familial
- **P Tafangy**, **A Raveloson**, Chefs de Service de Lutte Contre le Paludisme, MinSan PF
- **L Tuseo**, Roll Back Malaria, MiniSan PF/OMS océan Indien
- **H Rabarison**, Conservation Internationale
- **M Ratsimbasoa**, CNARP
- **PR Ralainirina**, **R Rémi**, **J Razanakolona**, Projet UGP/CRESAN/Global Fund
- **AE Randrianarivo-Solofoniaina**, **J Ranjalahy**, Institut National de la Santé Publique et Communautaire

Extérieures

- **O Mercereau Puijalon**, **T Fandeur**, **MT Ekala**, Unité d'Immunologie Moléculaire des Parasites, IP Paris
- **C Bouchier**, Génopôle, IP Paris
- **R Jambou**, IP Dakar, Sénégal
- **JB Duchemin**, CERMES, Niger
- **L Penali**, IP Côte d'Ivoire
- **R Laganier**, IP Bangui
- **E Legrand**, IP Cayenne
- **R Paul**, Unité d'Ecologie des Systèmes Vectoriels, IP Paris
- **R Durand**, **J Le Bras**, CNRCP, Service de Parasitologie, Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris
- **S Picot**, **F Peyron**, Laboratoire de Parasitologie Mycologie Médicale, Faculté de Médecine, Lyon
- **D Mullholand**, Kwazulu Natal University, Durban, Afrique du Sud
- **C Rogier**, **B Pradines**, **H Bogreau**, IMTSSA, Le Pharo, Marseille
- **PMillet**, **D Malvy**, Université Victor Segalen Bordeaux II, France
- **B Ahmed**, Ministère de la Santé de l'Union des Comores
- **D Bell**, Malaria diagnostics Malaria, other Vector-borne and Parasitic Diseases, WHO Regional Office for the Western Pacific

SOUTIENS FINANCIERS

- Ministère Français des Affaires Etrangères (FSP Résistance aux Anti Infectieux)
- Fonds Mondial (GF 3^{ème} round)
- Banque Mondiale (projet CRESAN)
- Institut Pasteur
- Union Européenne
- Natixis
- Impact Malaria
- Exxon Mobil
- Fondation Bio-Mérieux

L'objectif principal de l'URP est d'être reconnue comme un pôle d'excellence au niveau national, régional et international en matière :

- d'INFORMATION par la production de données scientifiques sur le paludisme et
- de FORMATION par la formation de scientifiques nationaux et internationaux.

Au cours de ces prochaines années, l'URP se doit donc :

- de renforcer sa position de "leader" en matière d'expertise sur le paludisme à Madagascar,
- de développer de nouveaux axes de recherche et de rééquilibrer les activités "Santé Publique" et "Recherche",
- de renforcer les compétences du personnel impliqué dans les projets de recherche,
- de renforcer la visibilité des activités du Groupe de Recherche sur le Paludisme (GRP).

DECOMPOSITION DU PROGRAMME

ACTIVITES DE RECHERCHE

- 1- Le paludisme à Madagascar : justifications scientifiques
- 2- Etude des marqueurs génétiques de la résistance de *P. falciparum* aux antipaludiques
- 3- Etude multinationale, randomisée, comparative, d'efficacité et de tolérance de trois schémas thérapeutiques : Coarsucam™ (artesunate + amodiaquine en association fixe) en 1 prise ou 2 prises par jour versus Coartem® (artemether + lumefantrine) dans le traitement de l'accès palustre simple biologiquement confirmé à *Plasmodium falciparum*
- 4- Development of a malaria resistance DNA chip as a public health tool for the management of *Plasmodium falciparum* malaria drug resistance
- 5- Surveillance régionale de la chimiosensibilité du paludisme : évaluation de la circulation de souches plasmodiales entre les Comores et Madagascar au niveau du port et de l'aéroport de Mahajanga
- 6- Traitements antipaludiques combinés ACT vs NACT : évaluation de leur efficacité thérapeutique et leur influence sur la transmission du paludisme
- 7- Améliorer l'état de connaissance sur les plantes endémiques utilisées comme antipaludique dans le contexte de la médecine traditionnelle à Madagascar
- 8- Génotypage de souches de *Plasmodium vivax* isolées à Madagascar et étude des gènes impliqués dans la résistance du parasite aux antipaludiques
- 9- Projet ACIP "Apport de l'imagerie radar dans la détermination des rizières, gîtes larvaires d'*Anopheles funestus* sur les Hautes Terres Centrales"
- 10- Système d'information géosanitaire sur le paludisme à Saharevo, Madagascar. Apport de la géomatique à la gestion de la santé publique

ACTIVITE DE SANTE PUBLIQUE (voir page 65)

- Projet "Indicateurs RBM" : surveillance des indicateurs du paludisme à Madagascar
 - Améliorer la prise en charge des malades par l'accès aux outils de diagnostic du paludisme à Madagascar
 - Evaluation des caractéristiques techniques de 3 RDT retenus dans l'appel d'offre GF 4^{ème} round pour le diagnostic du paludisme à Madagascar
 - Evaluation de l'efficacité thérapeutique des antipaludiques à Madagascar et surveillance de la résistance des souches de *Plasmodium falciparum*
-

ACTIVITES DE RECHERCHE

1- Le paludisme à Madagascar : justifications scientifiques

Un faciès épidémiologique hétérogène

Les particularités géographiques de l'île de Madagascar expliquent la diversité climatique du pays, où se côtoient les écosystèmes tropical humide, tropical sec, tropical d'altitude, sub-aride, et un climat de montagne. Les conditions de transmission du paludisme sont ainsi très hétérogènes, allant de l'absence complète de transmission sur les massifs montagneux aux zones d'endémie stable sur les côtes. On peut cependant identifier deux grands types de transmission :

- les régions côtières où les quatre espèces de plasmodies humaines existent et sont transmises par des vecteurs de type africain (*Anopheles gambiae*, *An. funestus*) et endémiques (*An. mascarensis*).
- les Hautes Terres Centrales (HTC), zones de paludisme instable à *Plasmodium falciparum* où le risque épidémique est principalement lié au vecteur *An. funestus*, vecteur endophile accessible aux campagnes de pulvérisation intra domiciliaire d'insecticides.

Un pays touché par la maladie

Première cause de morbidité, avec une mortalité importante bien que difficile à apprécier, le paludisme est à Madagascar à l'origine d'une consultation sur cinq dans les dispensaires de l'île. Il reste en tête de liste des priorités nationales en matière de santé publique. Les populations à risque, femmes enceintes et jeunes enfants, définies comme prioritaires par l'initiative de l'OMS "Roll Back Malaria" ou "faire reculer le paludisme", constituent là aussi les principales victimes. Cependant, si les structures de santé de districts quadrillent bien l'île, elles manquent de moyens pour une lutte efficace. Depuis cette année, une nouvelle politique nationale de lutte contre le paludisme a été élaborée. Son principal objectif est de réduire la morbidité et la mortalité dues au paludisme dans l'ensemble du pays, la transmission sur les HTC et le Sud subdésertique à paludisme instable et la mortalité dans les zones côtières à paludisme stable.

Cette politique privilégie 4 axes de lutte :

- L'amélioration de la qualité de la prise en charge du paludisme, avec notamment la mise en place d'un diagnostic biologique (test rapide "RDT" ou microscopie) et du traitement des cas positifs par les ACT (combinaison artésunate-amodiaquine), la mise en place de la prise en charge à domicile (PECADOM) des fièvres chez les enfants de moins de 5 ans avec la

chloroquine préemballée (Ody Tazomoka® ou Palu Stop®) dans les zones à paludisme stable sur les côtes et aux confins des HTC; cette molécule devant être progressivement remplacée par des traitements combinés à base de dérivé d'artémisinine.

- Le renforcement des mesures de prévention du paludisme par la promotion de l'utilisation de mesures de protection personnelle en priorisant les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes et l'utilisation des mesures de lutte antivectorielle sélectives, accessibles et viables, en particulier la campagne d'aspersion intra domiciliaire d'insecticides (CAID).
- Le renforcement de la lutte contre le paludisme chez la femme enceinte par la prise en charge effective des cas, la promotion de l'utilisation des Moustiquaires Imprégnées d'insecticide d'action durable (MID) et la prévention par le Traitement Préventif Intermittent (TPI) par l'association sulfadoxine-pyriméthamine (SP).
- Le renforcement de la lutte contre les épidémies de paludisme par la détection précoce et la riposte à temps aux épidémies.

Un pays exempt de résistance forte aux antipaludiques

De la même façon que la Grande Ile a pu rester à l'écart de certaines pandémies (absence de fièvre jaune) au cours des dernières décennies, il n'y a pas encore eu de réelle émergence de forte résistance aux antipaludiques. On connaît les graves conséquences, en termes de morbidité et de mortalité, de l'envahissement du continent africain par des souches chloroquino-résistantes. La position géographique de Madagascar entre les continents asiatique et africain, associée à l'augmentation du trafic international (commercial ou touristique), augmentent le risque de voir se développer la résistance aux antipaludiques dans l'île.

2- Etude des marqueurs génétiques de la résistance de *P. falciparum* aux antipaludiques

MA Rason, H Andrianantenaina, M Randrianariveolojosa

Objectifs

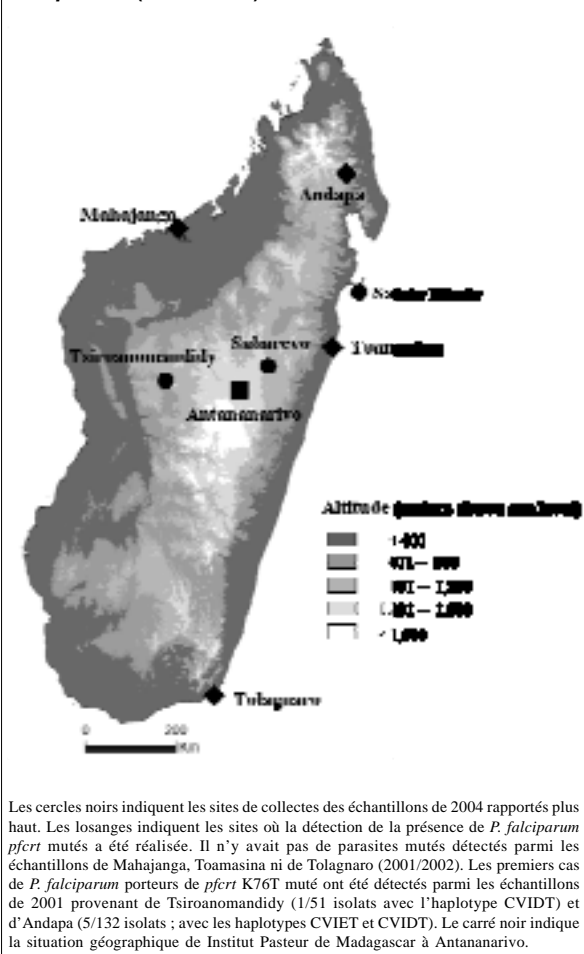
Des analyses complémentaires par PCR/RFLP ont été effectuées pour détecter la présence/absence des mutations *pfmdr1* N86Y ou *pfcr1* K76T chez des isolats de *P. falciparum* collectés en 2004 dans trois sites à Madagascar : Tsiroanomandidy sur le versant Ouest, Saharevo sur le versant Est et Sainte Marie sur la côte Est.

Présentation du projet et des résultats

Les résultats des tests de chimiosensibilité et de typage moléculaire montrent que la situation à Madagascar sort du commun : pays avec des résistances modérées aux antipaludiques communément utilisés. Nos résultats complètent alors les informations documentées pour la surveillance de la résistance de *P. falciparum* à Madagascar (voir figure), et servent de données de base pour suivre la dissémination des parasites potentiellement résistants à la chloroquine (mutés pour *pfcr1*) ou de l'extinction des parasites potentiellement résistants à un certain nombre d'antipaludiques dont les amino-4-quinoléines (mutés pour *pfmdr1*).

Madagascar opte pour l'abandon de la chloroquine, mais l'expérience des pays asiatiques a montré que l'abandon officiel de l'utilisation d'un médicament n'est pas forcément suivi de l'arrêt de l'utilisation du médicament par la population. Ainsi, la détection de marqueurs génétique de la résistance demeure une des méthodes utilisables à Madagascar pour surveiller la résistance de *P. falciparum* aux antipaludiques.

Figure 1 : Sites de collecte d'isolat de *Plasmodium falciparum* (2001-2004)



3- Etude multinationale, randomisée, comparative, d'efficacité et de tolérance de trois schémas thérapeutiques : Coarsucam™ (artésunate + amodiaquine en association fixe) en 1 ou 2 prises par jour versus Coartem® (artémether + luméfantine) dans le traitement de l'accès palustre simple biologiquement confirmé à *P. falciparum*

L Randrianasolo, A Ratsimbaoa, R Raherinjafy, M Randrianarivelosia (investigateur principal)

Objectifs

La politique nationale du traitement du paludisme à Madagascar préconise l'utilisation de la bithérapie artésunate + amodiaquine depuis décembre 2005, le médicament disponible étant le co-blister (comprimés séparés pour les deux molécules). Le groupe Sanofi Aventis a mis au point une combinaison fixe de artésunate + amodiaquine (Coarsucam™). L'essai clinique phase III a réalisé dans cinq sites en Afrique, dont un à Madagascar, en vue de qualifier et d'enregistrer ce médicament. C'est le premier essai clinique de ce type qui a été confié à l'Institut Pasteur de Madagascar.

Evaluer Coarsucam™ (artésunate + amodiaquine) en terme d'efficacité clinique et parasitologique à J28 (protocole OMS, avec un suivi de J28). Les résultats de cette étude seront utilisés pour compléter le dossier de demande d'enregistrement de cette combinaison fixe artésunate + amodiaquine.

Présentation du projet et des résultats préliminaires

Site d'étude : en collaboration avec le Ministère de la santé et du Planning familial, cette étude a été réalisée à Tsiroanomandidy, sur la marge ouest des HTC. Le paludisme figure parmi les premières causes de consultation dans cette région. Les études antérieures de la chimiorésistance ont montré un taux d'échecs thérapeutiques >25% à la chloroquine. La présence de souches mutées pour *pfcr1* (<2%) a été rapportée en 2004.

Considération d'éthique : la réalisation de cette étude a été étudiée et accordée par le comité d'éthique auprès du Ministère de la Santé et du Planning familial sous la référence 044-SANPF du 28 février 2006.

Réalisation de l'étude : l'investigation a eu lieu du 15 mars au 10 juillet 2006. La sélection des malades s'était effectuée dans deux centres de santé : le Dispensaire Catholique de Tsarahasina et le Centre de santé de base urbain de Tsiroanomandidy.

Résultats et discussion : sur 1 656 patients ayant présenté des signes cliniques du paludisme, 731 (44,1%) ont un résultat positif au test de diagnostic rapide (TDR). 179 (24,5%) patients impaludés qui ont rempli les critères d'inclusion ont été inclus à l'étude ATAQ EASY dont 58 enfants de moins de 5 ans (tableaux II et III).

Sur 179 malades inclus, 59 patients ont reçu Coarsucam™ en une prise par jour, 60 patients ont reçu Coarsucam™ en 2 prises par jour et 60 patients ont reçu Coartem®. Tous les malades qui ne sont pas venus au centre d'investigation lors du rendez-vous, font l'objet d'une recherche active, nous n'avons donc pas de perdu de vue. Nous n'avons pas observé de signes d'intolérance au médicament et aucun événement indésirable grave ne s'était pas produit durant l'étude.

Tableau II : Répartition des malades recrutés dans l'étude ATAQ EASY, PM_L_0164

	Disp. Catholique Tsarahasina	CSBU Tsiroanomandidy
Patients vus en consultations	1805	942
Suspicion du paludisme	936 (51,8%)	720 (76,4%)
TDR positif	371 (39,6%)	360 (50%)
Patients adressés au centre d'investigation	-	52
Patients enrôlés	144 (38,8%)	35 (9,7%)

Tableau III : Répartition des malades impaludés non recrutés dans l'étude ATAQ EASY, PM_L_0164

	Disp. Catholique Tsarahasina	CSBU Tsiroanomandidy
Accès palustre grave	6	
Refus du patient ou tuteur	6	
Poids de l'enfant <10kg	25	
Impossibilité de suivi	42	5
Diagnostiqués tard dans la journée	6	1
Parasitémie <1000/µl	53	10
Parasitémie >200000/µl	5	1
Femmes enceintes ou allaitantes	5	
Patients âgés <6 mois	6	
Repositivation	4	
Infection concomitante sévère	26	
Infection mixte	14	
Infection non- <i>P. falciparum</i>	29	
Total	227	1

4- Development of a malaria resistance DNA chip as a public health tool for the management of *P. falciparum* malaria drug resistance

Projet commun entre différents Institut Pasteur du RIIP, impliquant

IPP : O Puijalon, M Ekala, C Bouchier

IPD : R Jambou

IPC : T Fandeur, F Ariey

IPC : E Legrand

IPM : M Randrianarivelojosia

Objectifs

Ce projet, qui implique différents instituts du RIIP, consiste à chercher par séquençage des mutations associées à la résistance de *P. falciparum* aux antipaludiques et de standardiser des techniques utilisant des puces (DNA chips) pour les détecter.

Résultats et perspectives

En 2005, des produits de PCR après amplification de *pfprt* et de *cg2* (n = 128) ont été envoyés au Genepole à l'IPP pour séquençage.

Les premiers résultats obtenus ont confirmé d'une part, l'absence de parasites mutés pour *pfprt* et *dhfr* tel que nous l'avons déjà rapportée en utilisant la technique PCR/RFLP à l'IPM – contrairement à la situation aux Comores et en Afrique de l'est en général ; et ont montré d'autre part, l'absence de parasites mutés pour *Cytb* et de *dhps* à Madagascar.

En 2006, des échantillons d'ADN de *P. falciparum* de Madagascar et des Comores ont été envoyés à l'Institut Pasteur de Cambodge pour l'analyse par microarray. Les résultats préliminaires indiquent : (i) la fixation de la mutation *pfmdr1* N86Y dans la population de *P. falciparum* à Madagascar avec une fréquence d'isolats contenant des souches mutées à 77,8% (88/117); et (ii) la rareté de la mutation *pfprt* K76T dans la population de *P. falciparum* de Madagascar avec une fréquence d'isolats contenant des souches mutées à 2% (2/99).

5- Surveillance régionale de la chimiosensibilité du paludisme : évaluation de la circulation de souches plasmodiales entre les Comores et Madagascar au niveau du port et de l'aéroport de Mahajanga

D Ménard, AE Randrianarivo-Solofoniaina, BS Ahmed, M Jahevitra, LV Andriantsoanirina, J Ranjalahy Rasolofomanana, LP Rabarijaona

Présentation du projet et objectifs

La diffusion des parasites du paludisme résistants aux antipaludiques, notamment ceux résistants à la chloroquine représente un des principaux obstacles permettant le contrôle du paludisme par les programmes nationaux de lutte.

La situation concernant la résistance des souches de *P. falciparum* au niveau de la région de l'Océan Indien est paradoxale entre les Comores, où la prévalence de la résistance des parasites à la chloroquine et à l'association sulfadoxine-pyriméthamine est très élevée, et Madagascar, un des rares pays indemne de parasites résistants où les principaux antipaludiques montrent une

relative efficacité dans le traitement du paludisme.

Historiquement, les échanges entre les Comores et Madagascar sont relativement intenses. Actuellement, les échanges entre les Comores et Madagascar se font essentiellement via le port et l'aéroport de Mahajanga avec un bateau par semaine (36 heures de trajet) et deux vols aériens par semaine (une heure de vol).

Compte tenu de ces échanges et de la rapidité de la liaison entre les deux pays, le présent projet se propose :

- d'évaluer l'importance de la circulation des souches plasmodiales entre les Comores et Madagascar au niveau du port et de l'aéroport de Mahajanga
- d'estimer le risque d'introduction de souches mutées au niveau des gènes *pfprt*, *pfmdr1* et *dhfr*.

Résultats

La PCR a montré que 14,9% des 947 voyageurs étaient porteurs de *P. falciparum*. La fréquence des parasites mutants étaient de 80,1% pour la mutation 76T de *pfprt*, 99,3% pour la mutation 86Y de *pfmdr-1* et 95,0% pour la mutation 108N de *dhfr*. Une analyse univariée a montré qu'un voyage en Afrique dans les 3 derniers mois était associé significativement avec le portage de *P. falciparum* muté. Ceci suggère que la politique d'utilisation des antimalariques devrait être décidée sur un plan international et qu'un forum régional sur cette question est nécessaire dans cette région de l'Océan Indien

6- Traitements antipaludiques combinés ACT vs NACT : évaluation de leur efficacité thérapeutique et leur influence sur la transmission du paludisme

D Ménard, N Harimanana, N Andrianina, Z Ramiandrasoa, A Randriamanantena, N Rasoarilalao, M Jahevitra, L Tuseo, A Raveloson

Présentation du projet et des résultats

Ce projet a pour principal objectif de comparer l'efficacité thérapeutique de 2 types de chimiothérapie (combinaisons à base de dérivé de l'artémisinine (artésunate + amodiaquine) et combinaisons sans dérivés de l'artémisinine (amodiaquine + sulfadoxine-pyriméthamine)) et d'évaluer leur influence sur la transmission (influence sur la gamétocytogénèse = production de gamétocytes = ce sont les formes sexuées du parasite qui assurent la transmission de l'homme au moustique) du paludisme en zone méso-endémique à Madagascar

En raison de l'émergence de souches résistantes à la chloroquine à Madagascar et de la diminution de

l'efficacité thérapeutique cette molécule, le Service de Lutte Contre le Paludisme (SLCP) du ministère de la Santé de Madagascar a décidé en 2004 de réactualiser sa politique nationale en matière de lutte contre le paludisme et en particulier de mettre à jour et de proposer de nouveaux traitements efficaces et utilisables en première et seconde intention dans le traitement du paludisme non compliqué. Adoptant la ligne stratégique de l'OMS, il a été décidé que les traitements utilisés seraient des traitements combinés. Cependant, deux alternatives se présentaient quant aux choix des traitements combinés : soit utiliser les combinaisons à base de dérivés de l'artémisinine, combinaisons très efficaces, agissant aussi bien les stades érythrocytaires que sur les gamétocytes permettant ainsi de réduire les risques de transmission du paludisme, mais d'un coût élevé (environ 0.50 US\$), soit d'utiliser des combinaisons sans dérivés à base d'artémisinine comme la combinaison "amodiaquine + sulfadoxine-pyriméthamine" puisque la résistance à chacune des molécules n'a jamais été décrite jusqu'alors à Madagascar. Quatre fois moins chère que les combinaisons à base de dérivés de l'artémisinine, la combinaison amodiaquine + sulfadoxine-pyriméthamine n'agit que sur les stades érythrocytaires et ne permet pas de réduire la production des gamétocytes – la forme du parasite qui permet la continuité de la transmission.

Depuis 2006, les responsables du Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP) ont décidé de recourir à l'utilisation de la combinaison "artésunate + amodiaquine" en première intention. Ce changement doit se faire progressivement au cours des prochains mois grâce notamment au financement du Fonds Mondial (Global Fund round 3 et 4). Il est prévu d'utiliser cette combinaison aussi bien au niveau des formations sanitaires qu'au niveau communautaire (stratégie de prise en charge à domicile ou PECADOM).

Des résultats des tests *in vitro* et *in vivo* ont montré la bonne sensibilité des parasites du paludisme à l'amodiaquine, à l'artésunate et à l'association sulfadoxine-pyriméthamine à Saharevo dans le district de Moramanga. Nous nous proposons de réaliser pour compléter les données concernant la chimiorésistance du paludisme à Madagascar et d'évaluer le choix stratégique des responsables du PNLP, en comparant l'efficacité thérapeutique de ces 2 combinaisons ("artésunate + amodiaquine" *versus* "amodiaquine + sulfadoxine-pyriméthamine") aussi bien sur les stades érythrocytaires (= réponse clinique et parasitologique adéquate) que sur les stades gamétocytes (= impact sur la transmission).

7- Améliorer l'état de connaissance sur les plantes endémiques utilisées comme antipaludique dans le contexte de la médecine traditionnelle à Madagascar

MA Andrianavojaona, M Ratsimbason, H Rabarison, L Penali, D Mulholland, L Morin, M Randrianariveolosia

Présentation du projet et des objectifs

À Madagascar, l'attachement des malgaches à leurs valeurs socioculturelles est une justification plus importante du recours à la médecine traditionnelle que le coût des remèdes traditionnels par rapport aux produits pharmaceutiques. Dans le cadre de notre projet, l'activité antiplasmodiale des remèdes traditionnels antipaludiques à base de plante a été évaluée.

Des plantes qui poussent non loin des habitations, que les populations locales peuvent identifier et collecter avec facilité ont été retenues : *Tachiadenus longiflorus* (Gentianaceae), *Exacum quinquevenium* (Gentianaceae), *Maellastrum gracile* (Meliaceae), *Tachiadenus carinatus* (Gentianaceae).

Artemisia annua a été utilisée comme plante antipaludique de référence. Ce qui a permis d'estimer le niveau d'activité antiplasmodiale des extraits testés. Des poudres de feuilles sèches de *A. annua* ont été fournies gracieusement par la société Bionexx, basée à Madagascar et qui produit *A. annua* destinée à l'exportation pour la production des ACTs.

Evaluation in vitro de l'activité antiplasmodiale des extraits

P. falciparum FCM29 (résistant à la chloroquine), *P. falciparum* 3D7 (sensible à la chloroquine), maintenus en culture continue, ont été utilisés pour les tests anti-Plasmodium *in vitro* selon la méthode isotopique. Chaque partie de plantes a fait au moins l'objet de trois tests indépendants.

Résultats des tests antipaludiques

L'activité antiplasmodiale du décocté de *A. annua* est évidente avec une CI50 moyenne $< 0,5 \mu\text{g/ml}$ contre les deux clones de *P. falciparum*. Aucune des plantes malgaches testées ont été actives contre *P. falciparum in vitro*. Les moyennes des CI50 obtenues avec les extraits des quatre plantes testées se situent entre $276,1 \mu\text{g/ml}$ (écorce de tiges de *Malleastrum gracile*), et $651,8 \mu\text{g/ml}$ (racines de *T. carinatus*). Sur la base des valeurs des moyennes des CI50, l'activité anti-Plasmodium des extraits des plantes malgaches testées était au moins 900 fois inférieure à celle de *A. annua*.

Tableau IV : Activités anti-plasmodium des extraits aqueux des plantes testées

Plantes testées	Moyenne des CI50 \pm écart-type ($\mu\text{g/ml}$)	
	<i>P. falciparum</i> FCM29	<i>P. falciparum</i> 3D7
<i>Artemisia annua</i>		
Feuilles	0,31 \pm 0,05	0,32 \pm 0,1
<i>Exacum quinquevenium</i>		
Fruits	374,6 \pm 4,7	407,2 \pm 126,1
Racines	359,8 \pm 205,2	386,2 \pm 140,0
Tiges	416,3 \pm 138,1	504,1 \pm 112,9
<i>Tachiadenus carinatus</i>		
Fruits	350,6 \pm 42,2	309,1 \pm 47,0
Racines	540,0 \pm 158,2	651,8 \pm 169,6
Tiges	627,1 \pm 250,38	512,0 \pm 54,5
<i>Tachiadenus longiflorus</i>		
Racines	409,4 \pm 70,5	422,0 \pm 166,9
Tiges	474,7 \pm 151,1	548,0 \pm 113,3
<i>Malleastrum gracile</i>		
Branches	475,8 \pm 66,6	445,4 \pm 28,3
Ecorces de tiges	280,2 \pm 39,9	276,1 \pm 42,1

Test complémentaire

Des fractions des extraits aqueux (décocté) obtenues après chromatographie en phase liquide (phase mobile : dichlorométhane; méthanol; eau) ont été testées contre *P. falciparum* FCM29, à des concentrations comprises entre $3,1 \mu\text{g/ml}$ et $100 \mu\text{g/ml}$. Les CI50 obtenues ont été toutes $> 100 \mu\text{g/ml}$, indiquant une absence d'activité antiplasmodiale intéressante.

Notre étude a donc abouti pourtant à des résultats "négatifs" par rapport à l'hypothèse de départ (à la recherche des plantes antipaludiques). Mais nous préconisons toujours l'approche ethnobotanique pour la sélection des plantes à tester.

8- Génotypage de souches de *P. vivax* isolées à Madagascar et étude des gènes impliqués dans la résistance du parasite aux antipaludiques

D Ménard, C Barnadas, M Crespy, C Bouchier, S Picot

Présentation du projet et des objectifs

Les populations de *P. vivax* possèdent des caractéristiques épidémiologiques, biologiques et cliniques propres. Explorer la diversité génétique de *P. vivax* doit s'intégrer dans les stratégies de contrôle du paludisme. Plusieurs équipes ont récemment publié leurs travaux (Imwong *et al*, 2005; Leclerc *et al*, 2003 et 2004; Cui *et al*, 2003; ...) et ont mis en évidence l'intérêt des marqueurs *csp*, *msp1* et *msp3* pour le typage des populations parasitaires.

Cependant, ces études ont toutes été menées sur le continent asiatique ou sud-américain et notre projet a pour originalité de pouvoir explorer des souches provenant de différents sites de Madagascar.

D'autre part, devant les difficultés à réaliser des tests de chimiosensibilité *in vitro* et les contraintes liées aux tests *in vivo*, il est primordial d'avoir des marqueurs moléculaires fiables de résistance. Plusieurs gènes ont déjà été explorés : *mdr1* (Sa *et al*, 2005 ; Brega *et al*, 2005), *pvdhfr* et *dhps* (de Pecoulas *et al*, 1998 ; Menegon *et al*, 2006) ainsi que le gène orthologue de *pfcr1* (Nomura *et al*, 2001). Nous chercherons de nouveaux marqueurs et évaluerons leur validité grâce aux données cliniques déjà obtenues en parallèle sur les isolats analysés.

Trois approches seront envisagées dans ce projet. Une exploration générale de la structure des populations parasitaires de *P. vivax* à Madagascar sera réalisée à travers l'étude de 3 gènes : *csp* (circumsporozoite surface protein), *msh1* (merozoïte surface protein 1) et *msh3* (merozoïte surface protein 3). Les données obtenues feront l'objet d'une analyse phylogénétique.

Une partie du travail sera ciblée sur les gènes potentiellement impliqués dans la résistance du parasite aux antipaludiques (*pvmr*, *pvc*, *pvdhfr* et *pvdhps*).

Enfin, les résultats du génotypage des souches seront utilisés pour différencier les rechutes des recrudescences chez les patients ayant été suivis lors d'une étude *in vivo* (1^{er} semestre 2006) et ayant fait l'objet d'un échec thérapeutique.

Deux types d'informations seront donc obtenues : d'une part, diversité et dispersion génétique, données phylogénétiques et d'autre part, la présence de polymorphismes sur les gènes de résistance qui seront reliés aux données cliniques obtenues lors de l'étude *in vivo*.

Le séquençage apportera des informations sur les sites nucléotidiques à cibler sur les souches de *P. vivax* à Madagascar pour poursuivre cette exploration via d'autres techniques (RFLP).

9- Projet ACIP "Apport de l'imagerie radar dans la détermination des rizières, gîtes larvaires d'*A. funestus* sur les HCT"

F Rakotomanana, médecin, responsable de la cellule Système d'Information Géographique

L'objectif du projet Action Concertée Inter Pasteurienne (ACIP)

"Apport de l'imagerie radar dans la détermination des rizières, gîtes larvaires d'*A. funestus* sur les HCT" est de déterminer les gîtes potentiels d'anophèles

vecteurs du paludisme. Il s'agit d'améliorer les résultats déjà obtenus à partir des images optiques (Spot et Landsat).

Approche méthodologique

La méthodologie générale était basée sur la comparaison entre deux dates de l'évolution des réponses des objets (gîtes larvaires potentiels d'anophèles) qui permet de les différencier par rapport aux autres végétations qui ne changent pas. La complémentarité des images radar et optique a été étudiée.

Résultats et conclusion

Les résultats de l'analyse de l'image radar dépendent de la topographie de la région, du type et de la taille des gîtes larvaires : dans une zone à relief accidenté certains éléments pourraient être cachés par les déformations dues au relief, si la taille des gîtes, rizières en micro parcelles, est minime, ils pourraient être noyés par les speckle.

La cartographie automatique à partir de l'imagerie radar s'avère impossible. Néanmoins, les images radar permettent de bien différencier les zones de végétation comprenant les rizières et la ripisylve des landes environnantes.

10- Système d'information géosanitaire sur le paludisme à Saharevo. Apport de la géomatique à la gestion de la santé publique

F Rakotomanana, médecin, responsable de la cellule Système d'Information Géographique

L'objectif principal est de développer un prototype de système d'information géosanitaire sur le paludisme utilisant des nouvelles technologies d'information à référence spatiales.

Approche méthodologique

Pour la partie télédétection, une cartographie des gîtes larvaires potentiels des anophèles a été effectuée utilisant deux méthodes de classification sur des imageries satellitales. La deuxième partie est une étude spatio temporelle des accès palustres simples dans le site de suivi longitudinal du paludisme (Saharevo).

Résultats et conclusions

Les résultats obtenus en classification ont montré que la précision cartographique générale de la classification par la méthode classique de Maximum de Vraisemblance (MDV) a été améliorée par la méthode itérative conditionnelle (ICM).

Les résultats concernant l'apport du système d'information géosanitaire sur le paludisme intégrant des méthodes de suivi temporo-spatial, ont permis d'établir un modèle de l'incidence des accès palustres normale de deux ans (2000-2001) de suivi longitudinal

avec un décalage de trois mois par rapport à la température et la précipitation normale enregistrée pendant 30 ans. La distance des villages par rapport aux rizières a été identifiée comme facteur déterminant du paludisme parmi les gîtes potentiels de vecteurs étudiés.

ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

(voir page 66)

IMMUNOLOGIE

RESPONSABLE SCIENTIFIQUE

- **O Domarle**, scientifique, chef de l'Unité d'Immunologie

SCIENTIFIQUES ASSOCIÉS

Unité d'Immunologie

- **R Ramarason**, stagiaire post-doctoral, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo
- **R Razakandrainibe**, thésard, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo
- **E Rakotomalala**, technicienne de laboratoire

Unité du Paludisme

- **D Ménard**, chef de l'Unité
- **L Raharimalala Andrianaivalona**, médecin, adjointe au chef de l'Unité
- **M Randrianarivojosia**, scientifique, adjoint au chef de l'Unité
- **MA Rason**, médecins de terrain
- **F Rakotomanana**, médecin, responsable de la Cellule de Système d'Information Géographique

Unité d'Entomologie

- **J Ratovonjato**, médecin, responsable de l'Unité

Unité d'Epidémiologie

- **L Rabarijaona**, médecin, adjoint au chef de l'Unité

Unité des Mycobactéries

- **V Rasolofo**, chef de l'Unité

Unité Peste

- **L Rahalison**, chef de l'Unité

COLLABORATIONS

Extérieures

- **C Julier**, **A Sakuntabhai**, Unité Postulante de Génétique des Maladies infectieuses et autoimmunes, IP Paris

Les activités de l'Unité d'Immunologie sont organisées selon deux axes : un axe orienté sur le paludisme avec les activités au sein du Groupe de Recherche sur le Paludisme, et un axe d'appui technique pour accueillir les collaborations internes avec les Unités Peste et Tuberculose.

Ce dernier axe s'appuie sur la culture cellulaire et la cytométrie en flux. Les Unités Peste et Tuberculose développent des programmes contenant des volets immunologiques avec des collaborateurs étrangers. L'Unité d'Immunologie intervient donc à la demande comme appui technique. Ces activités ne sont donc pas mentionnées dans le rapport de l'Unité d'Immunologie.

Concernant le paludisme avec le Groupe de Recherche sur le Paludisme, les activités se sont focalisées sur l'analyse familiale de la susceptibilité à l'infection en intégrant des données épidémiologiques, parasitologiques, entomologiques, et immunologiques.

ACTIVITES DE RECHERCHE

Analyse familiale de la susceptibilité au paludisme

O Domarle, R Ramaroson, R Razakandrainibe, E Rakotomalala

Saharevo est un village d'un peu plus de 200 habitants, situé à Madagascar, sur la marge entre les Hautes Terres et la côte Est. Le paludisme est hypoendémique. Un suivi longitudinal actif mensuel a permis de mesurer les prévalences et les densités parasitaires à *P. falciparum* dans la population du village. Une analyse statistique des données a montré une distribution familiale des MDPA (moyenne des densités parasitaires de *P. falciparum* en portage asymptomatique, ajustées à l'âge et la date de prélèvement) de telle sorte que le phénotype est plus homogène entre les membres d'une même famille qu'entre des sujets qui n'ont pas de lien de parenté. Il existe donc un facteur familial qui contrôle la densité parasitaire.

Afin d'identifier la nature de ce facteur familial, trois volets ont été explorés :

Les facteurs environnementaux en analysant la distribution des moustiques vecteurs dans le village et en cherchant une association avec les phénotypes parasitologiques. Les données de captures de moustiques sur la saison de transmission de 2003 ont été comparées aux variables parasitologiques. Bien que les caractéristiques de construction des maisons, leur surface et la distribution dans le village semblent très homogènes, il existe une différence significative de l'agressivité des vecteurs (*Anopheles funestus*, *An. gambiae sl*, *An. mascarensis*) d'une maison à l'autre (moyenne du nombre de vecteurs capturés/H/mois, Test ANOVA, $p < 0,05$). Cependant, sur les 6 maisons qui ont fait l'objet de captures de moustiques, nous n'avons pas pu mettre en évidence de corrélation entre l'agressivité vectorielle et **i**) le nombre moyen d'accès palustres par occupant des maisons, **ii**) ni la moyenne familiale des MDPA.

Les facteurs génétiques en testant différents modèles d'héritabilité pour déterminer si l'un d'eux est compatible avec la distribution des phénotypes parasitologiques (collaboration avec Cécile Julier et Anavaj Sakuntabhal, Unité Postulante de Génétique des maladies infectieuses et autoimmunes de l'Institut Pasteur à Paris). D'après les modèles statistiques, l'héritabilité de la MDPA est estimée à 20% pour une probabilité inférieure à 0,05%. Les analyses doivent être

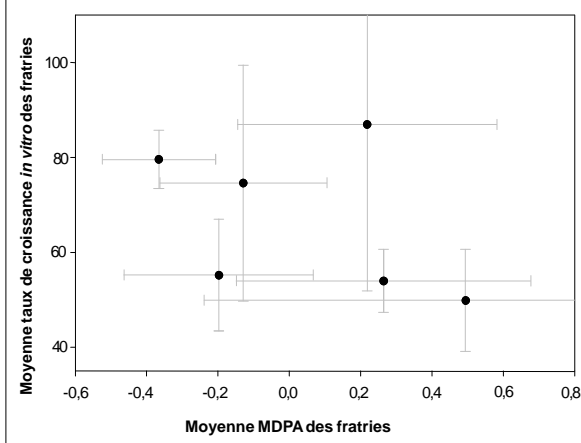
développées à partir de données brutes, autres que les MDPA. Ce volet doit être complété en 2007 par l'analyse de marqueurs génétiques.

Par ailleurs, un dépistage de la drépanocytose a été réalisé sur une cohorte réduite de 23 sujets de 6 fratries pour les études de réponse cellulaires *in vitro*. Une famille a deux enfants porteurs du trait drépanocytaire.

Les facteurs immunitaires :

L'activité inhibitrice des anticorps sur la croissance des parasites *in vitro* a été testée (cf rapport d'activité 2005). Il n'a pas été mis en évidence de corrélation entre l'inhibition et les MDPA des sujets, ni en analyse individuelle ni en analyse familiale (figure 1). Les investigations concernant la réponse anticorps se poursuivent avec des dosages des sous-classes d'IgG et les IgM sur un suivi de plusieurs années pour mesurer l'emprunte des infections, l'évolution des affinités et la relation avec les variables parasitologiques (sujet de thèse R Razakandrainibe).

Figure 1 : Moyennes et écarts types des MDPA et des taux de croissances des parasites *in vitro* en présence de sérum des donneurs chez 6 fratries. Chaque point représente, pour une fratrie, la moyenne des taux de croissance *in vitro* obtenus avec les sérums des donneurs de la fratrie, et la moyenne des MDPA de la fratrie. Nombre de fratries = 6 ; nombre d'enfants par fratrie = 3 à 6. Résultats présentés dans le rapport d'activité 2005



La réponse cellulaire a été examinée dans un modèle *in vitro* de co-culture de stimulation par des hématies parasitées issues d'une culture. Afin de réduire l'influence des infections intestinales sur la réponse immunitaire, les sujets ont été préalablement traités au Zentel (Albendazole) selon la posologie recommandée. Les prélèvements de sang ont été effectués au moins 1 mois après le traitement. Les prélèvements ont été acheminés et traités au laboratoire dans un délai inférieur à 24 heures. Les cellules mononuclées du sang

(PBMC) ont été stimulées par des hématies parasitées provenant d'une souche parasitaire maintenue en culture (PRBC ; ou des hématies non parasitées (RBC) pour les contrôles négatifs). Après 4 jours de culture *in vitro*, les cellules ont été analysées par cytométrie en flux (test de prolifération par extinction de la CFDA-SE; TCR $\alpha\beta$ /TCR $\gamma\delta$ /CD69; Foxp3/CD4/CD8/CD69; CD14/CD19/CD80; INF γ /IL-10/CD4). Les résultats des tests *in vitro* (sur la base des index de stimulations) ont été comparés **i**) entre eux, **ii**) avec le phénotype parasitologique d'intérêt (les Moyennes de Densités Parasitaires Ajustées à l'âge et à la saison, MDPA), et **iii**) la filiation des individus.

Vingt trois sujets distribués en 6 fratries ont pu être retenus pour les analyses. Les âges s'échelonnent de 4 à 25 ans (moyenne = 12,6 \pm 5,8 ; voir tableau I).

Tableau I : Description des fratries

Fratries	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Nombre sujets	3	3	5	3	3	6
Filles/garçons	2/1	2/1	3/2	0/3	1/2	3/3
Age	7-12	4-11	9-25	13-17	15-23	5-16
Moyenne age	9,67	7,33	15,80	15	19,67	10,50
AA/AS	3/2	3/0	5/0	3/0	3/0	6/0

Les résultats des tests *in vitro* sont présentés dans la figure 2. Par régression linéaire, des corrélations significatives ont été mises en évidence entre les index de stimulations des réponses cellulaires (tableau II).

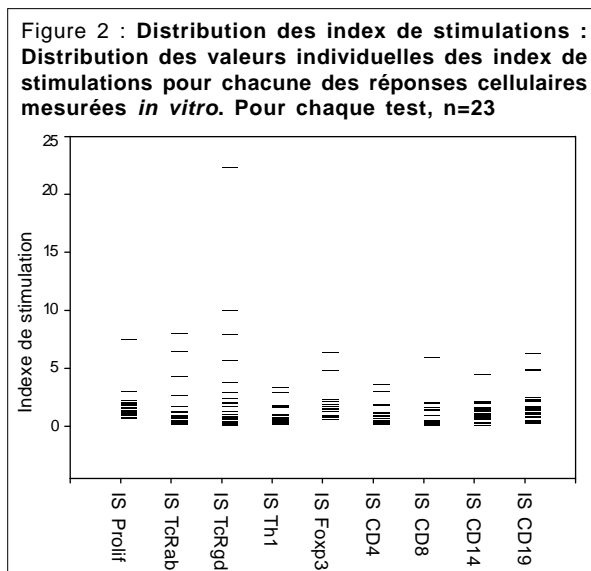


Tableau II : Régression linéaire entre phénotypes immunologiques. IS = Index de stimulation

Corrélations	r	P
IS TcRa β vs IS TcR $\gamma\delta$	0,79	<0,01
IS CD4 vs IS CD8	0,80	<0,01
IS CD14 vs IS CD19	0,92	<0,01

Ces corrélations sont difficiles à interpréter. En effet, sans être antagonistes, ces profils de réponses cellulaires sont contradictoires. On devrait donc s'attendre à des corrélations négatives plutôt que positives. Deux explications sont possibles :

- ces résultats traduisent une compétence individuelle à répondre "globalement" à l'ensemble des antigènes (hématies parasitées), chacun des antigènes présents stimulant l'une ou l'autre des voies;
- ou ces corrélations reflètent le taux de survie des cellules de chaque individu. Le taux élevé de mortalité au sortir de la culture *in vitro* pourrait masquer la réponse cellulaire spécifique.

Les résultats des tests de stimulation *in vitro* ont été comparés entre les fratries par le test non paramétrique de Kruskal-Wallis. Les index de stimulation des réponses CD4, CD8, CD14 et CD19 se sont révélés associés aux fratries (tableau III). Ceci pourrait signifier que ces réponses cellulaires sont sous contrôle de facteurs familiaux, en particulier génétique. Cependant, un biais à ces résultats est possible en raison du planning des prélèvements appliqué par le médecin en charge du recrutement sur le terrain.

Sur les 23 sujets recrutés, la distribution familiale du phénotype parasitologique (MDPA) n'est pas confirmée (tableau III); l'effectif étant plus faible que dans les analyses préliminaires. Avec trop peu de sujets et sans relation avec les MDPA, l'analyse multivariée n'a pas pu être réalisée.

Tableau III : Analyse de la distribution des phénotypes dans les fratries. Test non paramétrique de Kruskal-Wallis. MDPA = Moyenne de Densités Parasitaires Ajustées. IS = Index de stimulation

Variables	P
MDPA vs fratries	0,433
IS CD4 vs fratries	0,028
IS CD8 vs fratries	0,029
IS CD14 vs fratries	0,029
IS CD19 vs fratries	0,028

Les tests de stimulations *in vitro* se sont avérés très délicats en raison du contexte : un délai trop important entre le prélèvement et la mise en culture des cellules, des variations thermiques et l'agitation lors du transport en 4x4, l'état sanitaire des donneurs, les 4 jours de culture *in vitro*, sont autant de facteurs qui peuvent altérer les cellules. L'interprétation des résultats devient délicate et source d'erreurs. En raison des problèmes techniques rencontrés en début de programme, les résultats n'ont pu être exploités que sur 23 sujets. Les analyses statistiques ont donc perdu en puissance.

PESTE

RESPONSABLES SCIENTIFIQUES

- **L Rahalison**, Ph.D, chef de l'Unité Peste
- **ML Ralimanantsoa**, médecin, chef du Laboratoire Central de la Peste, Ministère de la Santé/IPM
- **M Rajerison**, Ph.D, adjointe production de bandelettes de diagnostic

SCIENTIFIQUES ASSOCIES

- **J Ratovonjato**, médecin, chef de l'Unité d'Entomologie
- **JL Soares**, médecin, chef de l'Unité d'Epidémiologie
- **M Ratsitorahina**, médecin, Cellule de recherche clinique, Unité d'Epidémiologie
- **O Domarle**, chef de l'Unité d'Immunologie

COLLABORATIONS

Locales

- **J Randriambeloso**, **H Ramiakajato**, Division Peste du SLME (DULMT, Ministère de la Santé et du Planning Familial)
- **H Rabeso**, Commune Urbaine d'Antananarivo
- Commune Urbaine de Mahajanga, PF des foyers de Peste et leur DRS
- Les médecins inspecteurs des SSD
- Organisation Mondiale de la Santé, Représentation Antananarivo

Extérieures

- **GL Andersen**, Center for Environmental Biotechnology, Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley USA
- **L Arntzen**, National Health Laboratory Service (NHLS), Johannesburg, South Africa
- **E Bertherat**, Epidemic Readness and Intervention, CSR/CDS OMS Genève, Suisse
- **R Bianucci**, Département de Biologie Animale et de l'Homme, Université de Turin, Italie
- **I Bitam**, **L Belhabri**, Laboratoire d'Hygiène de Wilaya, Annexe IP Oran, Algérie
- **E Carniel**, **C Demeure**, Centre de Référence National Yersinia et Centre Collaborateur OMS Peste, IP à Paris
- **S Chanteau**, **A Amadou**, CERMES, Niamey, Niger
- **G Del Prete**, Dept Internal Medicine, University of Florence, Italie
- **JM Duplantier**, **C Brouat**, CGBP IIR, Montpellier
- **Y Germani**, Unité de Pathologie Microbienne Moléculaire, IP à Paris
- **F Nato**, **S Darteville**, Laboratoire Ingénierie des Anticorps, IP Paris
- **D Rakotoarison**, **A Kinzelbach**, Malteser International
- **JC Shako**, Laboratoire de Référence du Nord-Est de l'Ituri à Bunia, République Démocratique de Congo
- **H Tomaso**, **W Splettstoesser**, Bundeswehr Institute of Microbiology, Munich, Allemagne
- **DTN Tuyet**, Institut Pasteur de Nha-Trang, Viet-Nam
- **MSF**, Suisse, **RDC**, Ouganda

SOUTIENS FINANCIERS

- Ministère de la Santé et du Planning Familial de Madagascar (Crédit Banque Mondiale CRESAN 2)
- Organisation Mondiale de la Santé, APW
- Institut Pasteur à Paris, Actions Concertées Inter-Pasteuriennes (ACIP), Programmes Transversaux de Recherches
- Institut Pasteur de Madagascar
- Ministère de la Recherche Français, INSERM
- Agence Nationale de la Recherche (ANR)
- Malteser International

Introduite à Madagascar depuis plus d'un siècle, la peste continue de sévir dans la grande île bien qu'une nette diminution ait été observée depuis 2005. L'Institut Pasteur de Madagascar développe et poursuit les recherches sur la peste, orientées prioritairement vers les projets permettant de répondre aux impératifs de santé publique.

Depuis 2003, l'Unité Peste a poursuivi et/ou renforcé les programmes de recherche qui reposent sur 4 grands axes :

- le développement et l'évaluation d'outils de diagnostic et de surveillance de la peste (tests immunochromatographiques, PCR). Les résultats du projet de recherche sur la mise au point et évaluation d'un Test de Diagnostic Rapide de détection d'anticorps de la peste ont été restitués en juin 2006.
- la réponse immunitaire spécifique au cours et au décours de la maladie (nouvelles collaborations)
- les études sur le cycle, notamment les volets réservoirs et vecteurs (projet sur la diffusion de la peste à Madagascar accepté pour financement en décembre 2006)
- les études génétiques diverses : SNPs de souches malgaches, séquençage de la souche multirésistante isolée à Madagascar (nouvelles collaborations)

DECOMPOSITION DU PROGRAMME

CENTRE COLLABORATEUR OMS POUR LA PESTE

ACTIVITES DE RECHERCHE

- 1- Développement et évaluation d'outils de diagnostic et de surveillance de la peste**
- 2- Etudes de la réponse immunitaire au cours et au décours de l'infection pesteuse**
- 3- Etudes sur 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**
- 4- Caractérisation moléculaire des mécanismes de résistance des puces aux insecticides**
- 5- Etudes génétiques diverses**

ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE (voir page 50)

- 1- Activités du laboratoire Central de la Peste (LCP)**
 - I- Surveillance de la peste humaine**
 - II- Surveillance de la peste murine**
- 2- Activités internationales du Centre Collaborateur OMS Peste**

ACTIVITES DE RECHERCHE

I- DÉVELOPPEMENT ET ÉVALUATION D'OUTIL DE DIAGNOSTIC ET DE SURVEILLANCE DE LA PESTE

1.1 Développement et évaluation d'un Test de Diagnostic Rapide de détection d'anticorps de la peste

IPM : M Rajerison, L Ralafiarisoa, L Rahalison
Collaboration nationale : Ministère de la Santé et du Planning Familial
IPP : F Nato
IPA : I Bitam
IPN : DTN Tuyet

Objectif

Développer et évaluer des bandelettes permettant de détecter les anticorps anti-F1 totaux chez l'homme et chez les animaux réservoirs de la peste et des bandelettes de détection d'IgM ou IgG anti-F1 chez l'homme.

Matériels et méthodes

Les étapes des travaux consistaient en :

- La mise au point des bandelettes : production d'antigène F1, conjugaison de cet antigène F1 à de l'or colloïdal, optimisation du système de capture pour la bande test et la bande contrôle.
- La mise au point d'un test ELISA de détection d'IgM anti-F1 pour test de référence
- La production à petite échelle de bandelettes
- L'évaluation au laboratoire à Madagascar : tests sur la bibliothèque disponible
- L'évaluation à plus grande échelle inter-pays : Standardisation des méthodes de référence pour les sites participants à l'évaluation, collecte d'échantillons et tests.

Réalisations et résultats en 2006 (fin de projet)

Les deux types de bandelettes prévues ont été mises au point (bandelettes 1 et 2) : la bandelette 1 qui détecte les Ig totaux anti-F1 sans distinction d'espèce (Bd1 ou IGTF1E) et la bandelette 2 qui détecte des Ig M chez les humains (Bd2 ou IGMF1H). Respectivement, 1500 et 800 bandelettes 1 et 2 ont été produites. Elles sont restées stables à 60°C pendant 3 semaines (équivalent à 2 ans à température ambiante), avec un seuil de détection doublé pour la bandelette 1.

Collecte d'échantillons

Dans le cadre de ce projet, les 3 IP (IPA, IPM et IPN) ont collecté des sérums ou sérobuvards d'animaux. Les sérums humains testés constituaient déjà la sérothèque de chacun des laboratoires.

IPA : 404 sérums ou sérobuvards de petits mammifères ont été collectés en Algérie.

IPM : environ 1000 sérums ou sérobuvards de rongeurs de zones endémiques de peste et une cinquantaine de sérums humains ont été collectés à Madagascar.

IPN : 505 sérums ou sérobuvards de rongeurs provenant de 3 anciens foyers de peste ont été collectés au VietNam.

Standardisation des méthodes de référence (ELISA de détection d'IG anti-F1 chez les humains et chez différentes espèces animales) pour les sites participants à l'évaluation

Un transfert de technique a été fait vers l'IPA et l'IPN.

Evaluation

Les bandelettes développées ont été évaluées sur des prélèvements d'Algérie, Madagascar et Vietnam :

(1) La bandelette de détection d'Ig totaux anti-F1 de la peste utilisable chez l'homme et chez les animaux de toutes espèces (Bd1 ou Bd IgTF1E) :

- chez l'homme cet outil, comparé à l'ELISA avait respectivement 84,6% et 95,4% de sensibilité et spécificité. Le taux de concordance entre les 2 tests était de 90%. Les VPP et VPN étaient respectivement de 94,8% et 86,3%.

- chez les animaux réservoirs potentiels de la peste (petits mammifères) : la Bd1 était testée sur des sérums de petits mammifères piégés à Madagascar et au Vietnam (genres *Rattus*, *Mus*, *Suncus*) et en Algérie (genres *Rattus*, *Mus*, *Psammomys*). Il s'agissait d'animaux de zones de peste ou infectés expérimentalement ou de zone sans peste.

La bandelette 1 trouvait 92 sérums positifs sur 352 testés (26,1%) contre 21% avec l'ELISA. Le taux de concordance entre les 2 tests était de 89,8%.

On observait respectivement une sensibilité et une spécificité de la bandelette de 87,8% et 90,3% par rapport à l'ELISA (tableau I). Les VPP et VPN étaient respectivement de 70,6% et 96,5%.

Tableau I : Comparaison Bd1 sur des sérums de petits mammifères d'Algérie, de Madagascar et du Vietnam

Bd1 IGTF1E	ELISA Ig G anti-F1 petits mammifères		Total
	Négatif	Positif	
Négatif	251	9	260
Positif	27	65	92
Total	278	74	352 ^a

a : 130 d'Algérie; 88 de Madagascar; 134 du Vietnam
Sensibilité Bd1 ELISA : 87,8%
Spécificité Bd1 ELISA : 90,3%
VPP 70,6%
VPN 96,5%

La Bd 1 était testée sur des sérums de chien (n=63) provenant de zones d'endémie pesteuse (Madagascar) et

non pesteuses (Sud de Madagascar et France). La Bd 1 permettait de détecter autant de positifs que l'ELISA (14/63 testés soit 22,2%). Le taux de concordance entre les 2 tests était de 96,8%. Par rapport à l'ELISA, la sensibilité et spécificité de la Bd 1 étaient respectivement de 92% et 98% (tableau II). Les VPP et VPN étaient respectivement de 92,8% et 98%.

La Bd1 testée sur 71 sérums d'individus provenant de zones indemne de peste (" contrôle négatifs ") a donné des résultats négatifs sur 70 échantillons. Aucun sérum n'avait donné de réaction positive lorsque la Bd 1 était testée sur 86 sérums de patients touchés par d'autres pathologies (19 amibiases/bilharzioses, 10 cysticercoses, 14 Toxoplasmoses, 10 Hépatites B, 10 Hépatites C, 10 Streptococoses, 13 non précisés).

(2) La bandelette de détection d'Ig M anti-F1 de la peste utilisable chez l'homme (Bd2 ou Bd IgMF1H), développée pour une visée diagnostic dans le cas où seul le sérum est disponible : la bandelette 2 a été évaluée par l'IPM uniquement sur une sérothèque de cas confirmés de peste à Madagascar ainsi que sur des contrôles négatifs.

Tableau II : Comparaison Bd1/ELISA sur des sérums de chiens

Bd1 IGTF1E	ELISA Ig G anti-F1 chien		Total
	Négatif	Positif	
Négatif	48	1	49
Positif	1	13	14
Total	49	14	63

Sensibilité Bd1 ELISA : 92%
Spécificité Bd1 ELISA : 98%
VPP 92,8%
VPN 98%

Comparaison Bd2 avec la bactériologie (tableau III)

Sur les 44 sérums de cas confirmés de peste testés, 26 étaient positifs au test Bd2 (59%). Sur les 18 négatifs à la Bd2, 13 étaient des sérums récoltés très précocement c'est-à-dire jusqu'à 3 jours après la date de début des signes. Les VPP et VPN étaient respectivement de 100% et 57,1%.

Les 24 sérums de témoins négatifs testés étaient tous négatifs à la Bd2.

Tableau III : Bd2 chez des individus confirmés ou non de peste

Bd2 IGMF1H	Statut bactériologique		Total
	N	P (confirmé)	
Négatif	24	18 ^a	42
Positif	0	26	26
Total	24	44	68

a : apparaissent comme des faux négatifs
13/18 sont des sérums très précoces
jusqu'à 2 jours après le début des signes

Sensibilité Bd2 Bactério : 59%
Spécificité Bd2 Bactério : 100%
VPP 100%
VPN 57,1%

Comparaison avec l'ELISA

Sur les 68 sérums testés, la bandelette 2 trouve 26 positifs (38,2%) alors que l'ELISA en trouve 22 (32,3%). Le taux de concordance entre les 2 tests est de 91,2%.

Par rapport à l'ELISA IgM anti-F1, la sensibilité et spécificité de la bandelette 2 sont respectivement de 95,4% et 89,1%. Les VPP et VPN sont respectivement de 81% et 97,6%.

1.2 Evaluation d'une PCR en temps réel pour le diagnostic de la peste

IPM : L Razanakoto, M Ratsimba, L Rahalison
Collaborations nationales : Ministère de la Santé et du Planning Familial
Bundeswehr Institute of Microbiology: H Tomaso, W Spletstoesser

Introduction

Des systèmes de PCR en temps réel pour la détection spécifique de *Y. pestis* ont été développés (Tomaso *et al.*, 2003). Les auteurs ont mis au point des PCR simples et multiplex extrêmement sensibles permettant d'amplifier spécifiquement l'ADN chromosomique ou plasmidique de *Y. pestis*. Les cibles étaient des gènes codant pour : l'ARNr 16S, l'activateur du plasminogène, la toxine murine et l'antigène F1.

Objectif

Evaluer sur des échantillons cliniques la valeur de la PCR en temps réel en tant qu'outil de diagnostic. Cette évaluation consiste à déterminer la sensibilité et la spécificité de l'outil par rapport au Gold Standard.

Matériel et méthodes

- Sélection des échantillons à tester.
- Méthodes d'extraction d'ADN de *Y. pestis* à partir d'échantillons cliniques.

Plusieurs méthodes d'extraction sont testées et la méthode la plus avantageuse en terme de rendement, élimination des inhibiteurs, coût, est choisie.

■ PCR en temps réel

Elle est réalisée selon le protocole de Tomaso *et al.*, 2003 (sondes, amorces et protocoles d'amplification) sur l'appareil disponible à l'IPM de type Rotorgene 3000 Corbett Research.

■ Démarche de l'évaluation

- Validation du protocole d'amplification sur de l'ADN provenant de culture pure et provenant de prélèvements positifs

- détermination du seuil de positivité de la PCR

- analyse d'échantillons cliniques et comparaison des résultats avec ceux de la culture et bandelette

- détermination sensibilité et spécificité de la PCR.

Réalisations

▪ Les échantillons à tester dans le cadre de ce projet et dont les résultats du diagnostic peste par le Gold standard et le test rapide sont disponibles, ont été sélectionnés et préparés :

▪ des cultures de *Y. pestis*
▪ des ponctions de bubons tout venant reçus au laboratoire : des échantillons confirmés peste, un pool d'échantillons confirmés peste, des échantillons négatifs peste, des échantillons négatifs, un pool d'échantillons négatifs, un pool d'échantillons négatifs additionné de quantité connue de *Y. pestis* (gamme contrôle positif).

▪ Les différentes méthodes d'extraction ont été testées sur les échantillons énumérés ci-dessus, les ADN obtenus ont été dosés.

▪ Les premiers essais d'amplification sur des ADN de *Y. pestis* issus de culture étaient concluants.

1.3 Evaluation de la bandelette de détection d'antigène F1 peste sur des prélèvements osseux anciens

IPM : *Rajerison M, Ralafiarisoa L, Rahalison L*
Université de Turin: *Bianucci R*

Objectif

Afin de répondre aux attentes des historiens, il s'agit de mettre en évidence dans les prélèvements osseux provenant de charniers du 17^{ème}-18^{ème} siècle d'Italie des traces biologiques (ADN ou protéines) de *Y. pestis*.

Méthode

La bandelette F1 est appliquée sur 36 poudres d'os ancien d'Italie et de France (8 de charniers de peste confirmée, 19 témoins négatifs et 9 non précisés). Pour cela, on a utilisé de la spongieuse : 50 mg de la spongieuse ont été reconstitué dans 150 µl de PBS, soumis à trois cycles successifs de lyse par congélation à -196°C dans de l'azote liquide et décongélation dans de l'eau bouillante (durée 1 cycle de congélation-décongélation : 1 min), puis soniqués pendant 15 min et enfin soumis à un dernier cycle de congélation-décongélation. Les suspensions ont été laissées 24 heures environ à une température de 4°C, puis centrifugées à 5000 rpm pendant 15 min à température ambiante. Le test de détection d'antigène F1 est appliqué sur 150µl de surnageant. Des témoins constitués de PBS (témoin négatif), poudre d'os négatif à la quelle on a ajouté de l'antigène F1 (témoin positif) ont été traité selon le protocole.

Résultats

Sur les 8 témoins positifs testés, 2 étaient positifs, 4 étaient négatifs, pour 2 échantillons, la quantité n'était

pas suffisante. Sur les 19 témoins négatifs testés, 18 étaient négatifs et 1 positif. Sur les 9 non précisés testés, 1 était positif.

2- ETUDES DE LA RÉPONSE IMMUNITAIRE AU COURS ET AU DÉCOURS DE L'INFECTION PESTEUSE

IPM : *V Andrianaivoarimanana, L Ralafiarisoa, C Raharimanana, M Ratsimba, N Randriananja, ML Ralimanantsoa, L Rahalison, O Domarle*
Ministère de la Santé et du Planning Familial : *Les médecins inspecteurs des SSD foyers de peste*
IPP : *C Demeure, E Carniel*
Université de Florence: *G Del Prete*

Objectif

Aujourd'hui, il n'existe aucun vaccin sûr et efficace contre *Yersinia pestis*. Ce projet, mené sous la coordination de l'IPP, vise à caractériser *in vitro* les réponses inflammatoire (cytokines) et immune (innée et adoptative) humaines lors d'une infection pesteuse afin d'optimiser la mise au point d'un nouveau vaccin contre la peste. Un avis favorable a été obtenu du Comité National d'Ethique décembre 2004.

Matériel et méthodes

▪ Sérologie de détection d'IgG anti-F1 par ELISA (*Rasoamanana et al., 1997*).

▪ Tests de prolifération des lymphocytes T après stimulation par antigène F1 (prélèvements sanguins au décours de l'infection) : à partir de PBMC mis en culture de cas confirmés de peste.

Réalisations

En 2006, nous avons mené les études sur les cas guéris de la maladie. Des prélèvements sanguins ont été récoltés en vue de mettre en évidence, parallèlement à une sérologie de détection d'anticorps anti-F1 spécifiques de la peste, des tests de prolifération des lymphocytes T après stimulation par antigène F1 (cellules mémoires reconnaissant l'antigène F1).

Les prélèvements collectés provenaient de 22 convalescents de peste prélevés à différentes dates, entre 18 jours et 11 ans après l'épisode maladie. Si on savait jusque là que les IgG anti-F1 des cas confirmés de peste étaient détectables à partir de J8 après le début des signes, on ne savait pas clairement jusqu'à quand persistaient ces anticorps. Notre étude a montré que jusqu'à 18 mois après la maladie, ces anticorps restaient généralement détectables dans le sang, en tous les cas à un niveau encore élevé jusqu'à 3 mois.

Un cas de peste pulmonaire 11 ans auparavant avait encore des anticorps détectables.

La prolifération cellulaire des PBMC après stimulation par l'antigène F1 était observée globalement un mois et demi après la maladie.

Les techniques ELISA d'analyse de cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IL-1b, IFN γ) ont également été mises au point en 2006.

Les études en cours d'infection n'ont pu être menées car aucun cas n'a pu être recruté dans les sites sélectionnés pour l'étude (baisse du nombre de déclarations), malgré l'extension du recrutement dans de nouveaux centres.

3- ETUDES SUR 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

IPM : S Rahelinirina, M Ranjalaha, P Andriambolamaro, L Ralafiarisoa, M Ratsimba, N Randriananja, C Raharimanana, L Rahalison

IRD : Y Papillon, JM Duplantier, C Brouat

UPPA : D Laffly, P Handschumacher

Objectifs

Dans le but de mieux comprendre l'hétérogénéité de la répartition des cas humains de peste à l'échelle locale et régionale, nous avons plusieurs objectifs :

- valider les observations sur les séroprévalences dans les populations humaines en étendant l'étude géographique déjà réalisée sur deux zones à deux autres régions (une péninsule / une zone de relief)

- évaluer si la topographie a un impact sur la structuration des populations de rongeurs et les mouvements des individus entre les populations

- estimer le niveau de structuration des populations de rats, et les échanges entre populations de différents habitats (volet abordé en 2006 dans le cadre de la thèse de Mme Rahelinirina S).

Matériel et méthode

Le niveau de structuration des populations de rongeurs est estimé par deux méthodes indépendantes : suivi des déplacements individuels par appâts marqués (biomarqueurs) et structuration génétique des populations (marqueurs microsatellites).

Suivi des déplacements individuels de rongeurs par appâts marqués (activités 2006). La technique de marquage choisie présente l'avantage de permettre un marquage collectif, sans capture au préalable ni sans tuer les animaux:

Etapas de l'étude de déplacements :

- Étude au laboratoire de l'appétence de *Rattus rattus* pour les aliments additionnés du biomarqueur (Rhodamine B) et efficacité du marquage. Quatre types d'aliments

généralement attractifs pour les rats ont été testés.

- Suivi du marquage (dynamique)

Le marquage après ingestion d'appât marqué est suivi au niveau de 3 types de poils des rats : les vibrisses, les poils de jarre et les poils de bourre. La progression de la rhodamine B au niveau de ces poils est suivie pendant 1 semaine, la persistance est suivie pendant 6 mois. Pour cela, les poils sont montés entre lame et lamelle, fixés et observés au microscope à fluorescence. Des signaux fluorescents rouges sont émis par les fibres du pelage marqué.

- Étude de l'efficacité de l'aliment marqué le plus attractif dans les conditions de terrain.

- Suivi du déplacement des rats en zone d'endémie pesteuse (utilisation de la rhodamine B).

Le déplacement étudié dans un premier temps est celui au sein d'un même hameau, entre les différents habitats caractéristiques : les maisons (intérieur), les haies de sisal (extérieur), les bas fonds de champs (extérieur).

- Sites d'étude : des villages en zone d'endémie pesteuse. Nous avons choisis autant de hameaux que de nombre de suivis (suivi mensuel pendant 3 mois).

- Sites contrôle : (i) hameaux appâtés sans rhodamine B (ii) hameaux sans peste non appâté.

- Protocole de marquage sur le terrain : le protocole des essais dans les conditions de terrain était appliqué (appâtage pendant 3 nuits à l'aide de boîtes de kartman).

- Protocole de capture : piégeage des rats pendant 3 nuits consécutives 1, 2 ou 3 mois après appâtage.

- Protocole de suivi du marquage: idem protocole au laboratoire.

Réalisations

- Étude au laboratoire de l'appétence de *Rattus rattus* pour les aliments additionnés du biomarqueur (Rhodamine B) et efficacité du marquage.

Les évaluations au laboratoire ont montré que le biscuit provende était l'aliment le plus attractif pour les *R. rattus*, qu'il soit additionné ou non de Rhodamine B, et aussi bien pour les mâles que pour les femelles.

La Rhodamine B apparaissait 24 h après ingestion au niveau du bulbe pileux. La migration vers la tige se faisait à J3 après ingestion. La fluorescence disparaissait du bulbe des vibrisses à J21 et de celle des poils à J65. Elle atteignait l'extrémité du tige à J65 pour les vibrisses et J95 pour les poils. Le signal disparaissait à J125 dans 10% cas. Au bout de 6 mois plus aucun marquage n'était observé.

- Étude de l'efficacité de l'aliment appétant dans les conditions de terrain

Sur le lot de rats piégés et gardés, 70% des appâts étaient complètement consommés, 20% touchés à moitié et 10% intacts. Les 9 *R. rattus* étaient tous marqués. A J30 après appâtage le bulbe pileux n'était plus marqué.

Sur le lot de rats piégés et relâchés, 50% des appâts étaient complètement consommés, 20% touchés à moitié et 30% intacts. Six *R. rattus* et 1 *Suncus murinus* étaient marqués. Cinq *R. rattus* étaient relâchés. La re-capture après 1 mois était composée de 3 *R. rattus* dont 2 marqués et 1 non marqué et de 3 *S. murinus* non marqués. Aucun animal n'était piégé au 2^{ème} mois.

- Suivi du déplacement des rats en zone d'endémie pesteuse (utilisation de la rhodamine B)

Les travaux sur le terrain se sont terminés en janvier 2007. Les rendements de piégeage et marquage sont en cours d'analyse.

4- CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE DES MÉCANISMES DE RÉSISTANCE DES PUCES AUX INSECTICIDES

Responsable : *J Ratovonjato*

Techniciens : *JC Rakotoniaina, L Andrianaivolambo*

Cette étude moléculaire des mécanismes de résistance des puces vectrices de peste aux insecticides est un prolongement des activités de surveillance de la sensibilité des puces vectrices de peste aux insecticides dans le cadre du Programme National de Lutte Contre la Peste à Madagascar. En 2006, 100 *Xenopsylla cheopis* résistantes aux pyréthrinoïdes et au DDT qui ont été collectées dans le quartier pesteux de Tsenabe Isotry dans la ville d'Antananarivo ont été testées par PCR pour détecter

des mutations au niveau du gène des Canaux Sodium Voltage Dépendants et qui sont responsables de la résistance croisée entre les pyréthrinoïdes et le DDT.

L'envoi des amplifiats pour séquençage est en cours.

5- ETUDES GÉNÉTIQUES DIVERSES

Collaborations internationales :

IPP : *Elisabeth Carniel*

Center for Environmental Biotechnology : *Gary L. Andersen*
(Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, USA)

- **SNPs de souches malgaches**

Une équipe de Lawrence Berkeley's a mis au point des techniques de "Single Nucleotide Polymorphism's" (SNPs) dans un but essentiellement diagnostic. Cette technique intéresserait Madagascar pour des études phylogénétiques, une collaboration a ainsi été initiée en 2006 pour de premiers essais.

- **Séquençage de la souche multirésistante isolée à Madagascar**

Après le séquençage du génome entier de *Y. pestis*, celui de la souche multirésistante isolée à Madagascar est proposé. C'est le plasmide qui confère cette multirésistance qui est séquencé par une équipe du "The Institute for Genomic Research, Rockville, MD 20850, USA" (TIGR).

ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

(voir page 50)

TUBERCULOSE ET MYCOBACTERIES

RESPONSABLES SCIENTIFIQUES

- **V Rasolofo**, scientifique, chef de l'Unité des Mycobactéries et responsable du Programme Mycobactéries
- **H Ramarokoto**, médecin, chef du Centre National de Référence des Mycobactéries, Ministère de la Santé et du Planning Familial

SCIENTIFIQUES ASSOCIES

- **JL Soares**, médecin épidémiologiste, chef de l'Unité d'Epidémiologie
- **M Ratsitorahina**, médecin, Unité d'Epidémiologie
- **O Domarle**, scientifique, chef de l'Unité d'Immunologie
- **S Rakotondrasoa, V Razanakotomalala**, médecins contractuels, projet Lèpre
- **SF Andriamandimby, V Raharimanga**, médecins contractuels, projet VACSIS
- **N Rakotosamimanana, HAO Saïd Tohir, O Rabe**, étudiants, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo

COLLABORATIONS

Locales

- **B Rarivoson, O Ratsirahonana, A Rakotoarisaonina**, Programme National Tuberculose, Service de Lutte contre la Tuberculose et la lèpre, SLTL - Ministère de la Santé et du Planning Familial
- **Responsables et Partenaires du Programme National** d'Elimination de la Lèpre / SLTL, Ministère de la Santé et du Planning Familial
- **B Ravalison, E Ranaivoson, J Razananirinomenjanahary, M Rakotonjanahary**, médecins du Dispensaire Antituberculeux d'Antananarivo (DAT), Institut d'Hygiène Sociale
- Responsables des Centres de Santé de Base (CSB)
- Correspondants Régionaux Tuberculose-Lèpre (CRTL), Ministère de la Santé et du Planning Familial
- Centre National de Recherches pour l'Environnement (CNRE)

Extérieures

- **B Gicquel**, Unité de Génétique Mycobactérienne, IP Paris
- **G Marchal**, Laboratoire d'Immunothérapie, IP Paris
- **N Honoré, ST Cole**, Unité de Génétique Moléculaire Bactérienne, IP Paris
- **A Zumla, L Kim, J Huggett, G Rook**, University College London (UCL), Londres
- **M Doherty**, Statens Serum Institute (SSI), Copenhagen, Danemark
- **R Brookes, P Hill**, MRC Laboratories, Gambia
- **C Chintu, G Mulundu**, University of Zambia (UNZA), Lusaka
- **A Assefa, A Demissie**, Armauer Hansen Research Institute, Addis Ababa, Ethiopie

SOUTIENS FINANCIERS

- Association Française Raoul Follereau
- Gouvernement Malgache (Global Funds)
- Union Européenne
- Institut Pasteur de Madagascar
- Institut Pasteur (ACIP)

La tuberculose et la lèpre sont toujours des problèmes de santé publique à Madagascar avec des incidences respectives de 80 tuberculeux pulmonaires à microscopie positive pour 100 000 habitants et 3 lépreux pour 10 000. Pour chaque maladie, le Ministère de la Santé a mis en place un programme de lutte : le Programme National Tuberculose (PNT) et le Programme National d'Élimination de la Lèpre (PNEP).

Le programme sur les mycobactéries de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) comprend des activités de recherche, de diagnostic et de santé publique menées en collaboration avec les programmes du Ministère. Ainsi, ont été développées pendant les 10 dernières années des recherches en épidémiologie moléculaire des mycobactéries du complexe *M. tuberculosis*, et l'évaluation de nouveaux outils pour le diagnostic de la tuberculose. Depuis 2003, l'étude « VACSIS » dont l'un des objectifs est le renforcement des capacités pour la réalisation de futures études cliniques a été conduite, avec la contribution de l'Unité d'Épidémiologie de l'IPM, le PNT et le dispensaire antituberculeux d'Antananarivo. Cette étude devrait s'achever en 2006.

Le laboratoire des mycobactéries de l'IPM fait partie depuis 1995 du Centre National de Référence des Mycobactéries (CNRM) et a commencé à participer à la 3^{ème} enquête nationale sur la résistance primaire des BK aux antituberculeux.

DECOMPOSITION DU PROGRAMME

ACTIVITES DE RECHERCHE

- Etude de marqueurs de l'immunité anti-tuberculose (Projet VACSIS)
- Epidémiologie moléculaire de la tuberculose à Madagascar
- Diagnostic de la tuberculose active (ACIPAPA)
- Etude de la résistance de *M. leprae* à la rifampicine
- Recherche sur les mycobactéries de l'environnement à Madagascar

ACTIVITES DU LABORATOIRE NATIONAL DE REFERENCE DES MYCOBACTERIES (voir page 59)

- 1- Activités de diagnostic et de supervision du CNRM
 - 2- Contrôle de qualité de la bacilloscopie
 - 3- Enquête nationale sur la résistance primaire de *Mycobacterium tuberculosis*
-

ACTIVITES DE RECHERCHE

Etude des marqueurs de l'immunité anti-tuberculeuse chez les sujets contacts de patients tuberculeux pulmonaires (projet multicentrique VACSIS)

Situation du projet dans le contexte international

Le vaccin BCG, seul vaccin antituberculeux disponible à l'heure actuelle, protège les jeunes enfants des formes graves de la tuberculose, mais son efficacité chez l'adulte est beaucoup plus variable (0 à 85% selon les populations). Par ailleurs, la vaccination par le BCG peut causer des effets secondaires chez les sujets infectés par le VIH et les nouveaux-nés de mère séropositive. C'est pourquoi diverses stratégies ont été déployées par des équipes du Nord pour développer de nouveaux vaccins, capables de prévenir l'infection tuberculeuse et le développement de la maladie. Certains candidats vaccins sont déjà testés actuellement dans des essais cliniques de phase I. Toutefois, comme il peut se passer plusieurs années entre l'infection par *Mycobacterium tuberculosis* et la maladie, l'évaluation de l'efficacité de nouveaux vaccins peut durer des années voire des décennies. Une alternative est l'identification de marqueurs spécifiques de l'immunité antituberculeuse pour sélectionner ces vaccins potentiels et les tester en diminuant la durée et le coût des essais cliniques. Le contrôle de l'apoptose étant fondamental dans la réponse immunitaire aux infections, les gènes impliqués dans l'apoptose s'avèrent être des marqueurs intéressants à étudier.

Problématique de la recherche et objectifs

Le projet VACSIS est une étude multicentrique à laquelle participe 3 instituts de recherche européens et 4 instituts africains. L'objectif était de rechercher des marqueurs de l'immunité anti-tuberculeuse qui pourront être utilisés dans des essais vaccinaux. Il s'agissait d'étudier :

- l'expression de marqueurs associés à l'immunité contre la tuberculose, dont des marqueurs de l'apoptose, chez les sujets contacts de tuberculeux pulmonaires à microscopie positive (TPM+) ;
- le génotype des souches BK pour déterminer s'il existe une relation entre le génotype des souches, la sévérité de la maladie, la transmission et la réponse immune.

Approche méthodologique et expérimentale

- 1- Recruter et suivre trois cohortes d'individus :
 - nouveaux patients TPM+ (cas index ou CI) du DAT;

- sujets contacts rapprochés (SC) de ces cas index (vivant sous le même toit);

- par CI, 2 sujets témoins (T) non-tuberculeux (recrutés au dispensaire antirabique de l'IPM), sans notion de contact avec un patient tuberculeux, appariés sur le sexe et l'âge de 2 SC tirés au sort.

- 2- Suivre les sujets contacts (24 mois) pour déceler l'apparition éventuelle de la maladie.

- 3- Déterminer si les sujets contacts sont infectés ou non, **i)** par test d'IDR à la tuberculine et **ii)** par mesure de l'IFN γ par le test ELISPOT, après stimulation des cellules du sang par les antigènes ESAT-6, CFP7, Ag85A, Rv2031, PPD (fournis par le SSI) et DES (fourni par l'UGM/IPP).

- 4- Identifier des marqueurs moléculaires de l'immunité antituberculeuse en mesurant l'expression de gènes de plusieurs marqueurs chez les différents groupes de sujets par l'analyse quantitative des ARNm à partir du sang total, en utilisant la technique de PCR quantitative (qRT-PCR) en temps réel, et *Hupo* comme gène de ménage.

- 5- Caractériser les souches de BK isolées au cours de l'étude par spoligotyping et l'étude du polymorphisme (SNPs) de gènes anti-mutateurs, définis par l'Unité Génétique Mycobactérienne (IPP).

Résultats

- De juin 2004 à décembre 2006, 104 cas index (CI), 305 sujets contacts (SC) et 186 témoins (T) ont été inclus et suivis par les médecins de l'étude. Parmi les CI, 3 ont eu une rechute, 5 ont abandonné le traitement et 2 sont décédés (dont une rechute). Durant l'étude, 2 SC sont décédés et 7 ont développé la tuberculose.

- La réponse IFN γ (par ELISPOT) des sujets à différents antigènes mycobactériens à J0 (figure 1) montre une réponse significativement plus élevée chez les CI que chez les SC et les T avec les antigènes PPD, CFP7, ESAT6 et DES ($p < 0,01$). Avec les antigènes spécifiques de l'infection CFP7 et ESAT6, aucune différence n'a été observée entre les SC et les T à J0. Par contre après 3 mois, la réponse était plus élevée chez les SC que chez les T. De même, aucune différence dans la réponse IFN γ selon la proximité des sujets aux CI n'a été observée à J0. Alors qu'après 3 mois, les contacts les plus proches des CI avaient une réponse significativement plus forte à ces antigènes que les sujets plus éloignés (figure 2).

Figure 1 : Réponse IFN γ /ELISPOT aux antigènes mycobactériens chez les trois cohortes de sujets (CI = cas index; SC = sujet contact; T = témoin)

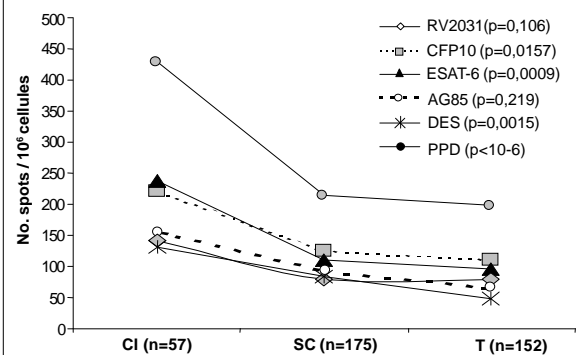


Figure 2 : Réponse IFN γ /ELISPOT aux antigènes mycobactériens Rv2031, CFP7, ESAT6 et PPD à J0 et au 3^e mois (M3), selon la proximité des sujets aux CI

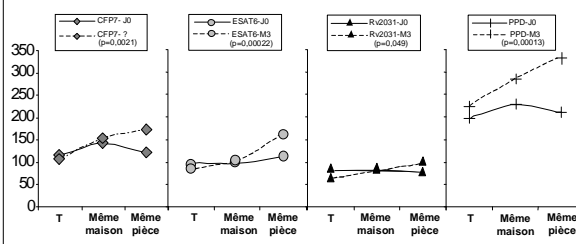


Tableau I : Recrutement et suivi des cohortes de sujets de l'étude de juin 2004 à décembre 2006

Cohortes	Cas Index	Sujets contacts	Contrôles communautaires
No. sujets	104	305	186
Age (ans)	34,18 [16-70]	22,66 [0-79]	25,13 [0-73]
Sexe			
M	55	134	89
F	49	171	97
IDR au moment de l'inclusion (J0)			
Négative	7	66	89
5-14 mm	22	104	54
≥ 15 mm	18	133	43
ND	57	2	0
IDR au 3 ^e mois			
Négative	0	38	60
5-14 mm	0	37	33
≥ 15 mm	0	49	17
ND	104	181	76
Proximité par rapport au CI			
Même pièce	-	218	-
Même maison	-	84	-
Maison différente	-	-	186
Suivi clinique et recueil de prélèvements			
J0	103	2861	184
3 ^e mois	72	236	145
6 ^e mois	70	237	79
12 ^e mois	70	237	-
24 ^e mois	8	24	-

▪ L'expression de plusieurs gènes impliqués dans l'immunité a été étudiée par qRT-PCR en temps réel chez 18 CI, 59 SC et 31 T. A J0, aucune différence entre les 3 groupes de sujets dans l'expression de TNFR1, TNFR2, de Flice, FasL et Bcl2 n'a été observée ($p > 0,05$). L'expression de Flips était plus élevée chez les CI et leurs SC ($p < 0,05$). Après 3 mois, l'expression de Flips chez les SC a augmenté significativement (9947 /10⁶

copies Hupo), mais n'a pas varié chez les T. Par ailleurs, l'expression de Flips était plus élevée chez les SC IDR positifs que chez les SC IDR négatifs ($p = 0,004$). Ces résultats suggèrent que les individus infectés ou en contact avec un patient tuberculeux auraient tendance à réguler négativement l'apoptose. Mais l'expression de FasL était également plus élevée chez les SC IDR positifs, montrant ainsi qu'il existe un équilibre dans la régulation des différents acteurs de la réponse apoptotique au cours de l'infection.

Epidémiologie moléculaire de la tuberculose à Madagascar

Des études sur l'épidémiologie moléculaire de la tuberculose ont été rapportées dans de nombreux pays. Les techniques de génotypage les plus utilisées ont été la RFLP/IS6110 et le "spoligotyping". Depuis quelques années, d'autres marqueurs génétiques comme les MIRU/VNTR et plus récemment les SNPs ont été décrits.

Plusieurs études sur l'épidémiologie de la tuberculose à Madagascar ont déjà été publiées. Cependant, aucune étude spécifique n'a été réalisée en 2006. Le spoligotyping des souches VACSIS a débuté. Il s'agit d'une continuation du projet VACSIS, l'objectif étant de caractériser le génotype des souches isolées au cours de cette étude, et de corréler les génotypes des souches avec les données immunologiques obtenues chez les sujets. Cependant, pour réaliser une telle analyse, il est indispensable de connaître la représentativité des souches VACSIS par rapport aux génotypes présents dans la population générale. Pour cela, des souches *M. tuberculosis* représentatives de la ville d'Antananarivo a aussi été initié en 2006. Par ailleurs, pour mieux caractériser les souches, un projet sur le typage de gènes anti-mutateurs et des gènes impliqués dans la virulence du BK en collaboration avec l'Unité de Génétique Mycobactérienne (IPP) est en cours d'élaboration (à soumettre en 2007). Il entrera dans le projet de Doctorat d'un étudiant en cotutelle IPM-IPP.

Projet "Diagnostic de la tuberculose active" (ACIP APA)

Situation du sujet dans le contexte international

La microscopie, principal outil diagnostique à la disposition des Programmes Nationaux, a une sensibilité limitée (60-70%) ne permettant de dépister que les patients tuberculeux pulmonaires à un stade avancé. De nouveaux tests rapides et sensibles pour le diagnostic de la tuberculose permettraient de limiter la dissémination des souches *M. tuberculosis*.

Problématique de la recherche et objectifs

L'antigène APA (antigène sécrété lors de la croissance de *M. tuberculosis*) a été étudié par l'équipe de G Marchal (IPP) depuis plusieurs années.

L'objectif de cette étude est de mettre au point et d'évaluer un outil de diagnostic pour la tuberculose reposant sur la réponse cellulaire des malades vis-à-vis cet antigène :

- par le dosage de l'IFN γ sécrété *in vitro* après stimulation des cellules du sang par APA;
- par l'étude de la prolifération des lymphocytes T colorés au CFDA par la cytométrie de flux.

Approche méthodologique et expérimentale

Il s'agit d'une étude ACIP coordonnée par le Pr G Marchal (IPP).

A Madagascar, il s'agit de recruter : une cohorte de 20 nouveaux TPM+, âgés de 20 à 50 ans, VIH négatifs, au Dispensaire antituberculeux d'Antananarivo (DAT); une cohorte de 20 sujets sains, proches contacts de patients TPM+ (1 contact apparié sur le sexe par patient TPM+), une cohorte de 20 sujets témoins sains (appariés sur le sexe et l'âge avec les patients) au centre antirabique de l'IPM.

Pour chaque sujet, les tests suivants sont réalisés :

- dosage de l'IFN γ à partir du sang total après stimulation par des antigènes spécifiques PPD, APA, et le PBS (témoin négatif) en utilisant le kit QuantiFERON-CMI (Cellestis) ;
- isolement des cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC) et analyse de la prolifération cellulaire par la cytométrie de flux après culture en présence de PPD ou d'antigène APA, et marquage cellulaire avec le CFDA (carboxy fluorescéine diacétate).

Les données recueillies au cours de cette étude seront d'abord analysées dans chaque site, puis feront l'objet d'une analyse globale multicentrique. Cette analyse permettra de déterminer la sensibilité et la spécificité des antigènes pour le diagnostic précoce chez les sujets contacts.

Etat d'avancement

L'étude a débuté en septembre 2006. A ce jour 18 TPM+ et 5 sujets contacts ont été inclus.

Projet "Lèpre" : Etude de la résistance de *Mycobacterium leprae* à la rifampicine

Situation du sujet dans le contexte international

La Division Lèpre du Ministère de la Santé et du Planning Familial, en partenariat avec l'OMS, l'AFRF et le NLR, conduit le PNEL. L'objectif est de diagnostiquer et traiter les patients lépreux par la polychimiothérapie

ou PCT (dapsone, rifampicine, clofazimine), selon les critères de classification (patients paucibacillaires [PB] et multibacillaires [MB]) et les recommandations de l'OMS. Madagascar a atteint l'objectif OMS d'élimination de la lèpre avec une prévalence de 0,99 pour 10 000 habitants sur l'ensemble du pays en fin de premier trimestre de l'année 2006. Cependant, dans quelques provinces, la prévalence est encore supérieure à 1 pour 10 000. Une des entraves à la lutte contre la lèpre est l'éloignement des centres de santé de base (CSB), rendant le dépistage et le suivi des patients lépreux difficiles. L'apparition de souches de *M. leprae* résistantes aux antibiotiques est alors possible chez les patients irréguliers et dans les cas de rechute.

Le test de sensibilité de *M. leprae* aux antibiotiques réalisé sur coussinet plantaire de souris est long (un an) et difficile à réaliser. C'est pourquoi des tests moléculaires ont été développés pour détecter la présence de mutations dans des gènes impliqués dans les mécanismes d'action des antibiotiques. Entre autres, une technique de PCR-hybridation a été mise au point par N. Honoré et coll. (Unité de Génétique Moléculaire Bactérienne, IPP) pour détecter les mutations responsables de la résistance à la rifampicine, au niveau du codon Ser425 du gène *rpoB*, de *M. leprae*, à partir de biopsies de lésions MB. Cette technique a été mise en place à l'IPM en 2001. De plus, une autre méthode basée sur la PCR en temps réel avec l'intercalant Sybr Green I (PCR-SG) a été aussi mise au point à l'IPM.

Problématique de la recherche et objectifs

Les principaux objectifs de cette étude étaient de tester la faisabilité de ces techniques à Madagascar et les évaluer pour la détermination de la résistance des *M. leprae* à la rifampicine à partir de biopsies MB ; puis d'étudier la résistance de *M. leprae* dans des régions endémiques.

Pour évaluer ces techniques, il conviendrait de disposer de biopsies cutanées portant des *M. leprae* sensibles et d'autres à *M. leprae* résistants. Pour avoir des chances de mettre en évidence des mutations (*M. leprae* résistants), il faudrait tester des biopsies cutanées de lépreux MB en rechute.

Les objectifs que nous nous sommes donc fixés en 2006 étaient :

- Valider les deux techniques à l'IPM sur des ADN de biopsies de pattes de souris infectées par des *M. leprae* résistants à la rifampicine (fournies par N Honoré, IPP);
- rechercher et recruter des patients lépreux MB en rechute et des patients irréguliers, pour l'évaluation des deux techniques de PCR sur des biopsies cutanées de lésions MB.

Approche méthodologique et expérimentale

▪ Recherche de patients lépreux MB en rechute : 2 médecins ont été recrutés pour la recherche de patients MB en rechute ou irréguliers dans les zones endémiques. Pour chaque patient inclus, le diagnostic biologique de la lèpre a été fait par :

- l'examen bacilloscopique des sérosités pour recherche de baar (coloration de Ziehl-Neelsen),
- l'examen histologique des biopsies pour le diagnostic histologique et la recherche de baar.

▪ Détection des mutations du gène *rpoB* de *M. leprae* par la PCR : les ADN de *M. leprae* ont été extraits des biopsies cutanées. Les ADN ont été analysés par la méthode de PCR et hybridation reverse pour la recherche des mutations du codon Ser425 dans le gène *rpoB*. Ils ont aussi été analysés par la méthode de "Touch-Down-PCR" en temps réel avec l'agent intercalant Sybr Green I (TD-PCR-SG).

Résultats

▪ *Recrutement des patients MB* : de janvier à septembre 2006, 9 missions dans des régions endémiques de lèpre (Est, Sud-Est, Ouest et Sud-Ouest) ont été effectuées par les médecins de l'étude. Sur 198 patients consultés, 20 répondaient aux critères d'inclusion (9 suspects de rechute MB, 5 patients MB irréguliers, 6 ayant abandonné leur traitement et réadmis). Seulement 9 ont eu une bacilloscopie positive (5 rechutes, 3 perdus de vue, 1 malade irrégulier).

▪ *Validation des deux méthodes de PCR sur les ADN des biopsies de pattes de souris infectées* : les 2 techniques de PCR ont été testées avec les ADN de biopsies de pattes de souris infectées, NH81030, NH 82061, NH87038 qui portaient respectivement des *M. leprae* avec les mutations Ser425Met, Ser425Leu et Ser425Phe. Il a ainsi été possible de montrer la spécificité de la PCR-hybridation pour la détection des différents codons. De même, la technique de TD-PCR-SG a été validée à partir de ces biopsies. Les résultats ont aussi montré que la technique de TD-PCR-SG était assez sensible pour détecter 2 mutations dans un même échantillon.

▪ *Récapitulation des résultats de PCR depuis le début de l'étude* : depuis le début de l'étude, 30 biopsies ont été testées par les deux méthodes de PCR. Vingt-sept ADN ont été trouvés sensibles par les 2 méthodes. Par contre, 3 biopsies ont été trouvées sensibles (codon Ser425) par PCR-hybridation, alors que par TD-PCR-SG une biopsie avait le codon Phe425, une autre le codon Leu425, et la troisième répondait à leu425 mais aussi à

Ser425. Elles pourraient donc contenir différentes souches de *M. leprae* ce qui pourrait expliquer la discordance de ces résultats.

Recherche sur les mycobactéries de l'environnement à Madagascar

Depuis l'apparition du VIH, le bacille tuberculeux et les mycobactéries atypiques figurent dans la liste des germes responsables des maladies opportunistes dans les infections à VIH. Par ailleurs, les mycobactéries atypiques sont naturellement résistantes à de nombreux antibiotiques.

Quelques publications ont fait part de l'existence de mycobactéries non tuberculeuses (MNT) potentiellement pathogènes dans les régions littorales malgaches, mais aucune enquête épidémiologique ni aucune étude environnementale montrant le rôle des mycobactéries atypiques en santé publique à Madagascar n'ont encore été conduites.

Cette étude a deux objectifs principaux :

- rechercher la présence de MNT dans les réseaux de canalisations urbaines et établir la corrélation entre ces mycobactéries et leur environnement;

- rechercher de nouvelles activités anti-mycobactériennes en criblant une collection d'extraits de plantes médicinales malgaches et d'extraits marins.

Elle consistait à :

- Recueillir des échantillons d'eau dans 7 sites des réseaux de canalisation des villes d'Antananarivo (hauts-plateaux centraux) et Taomasina (côte Est);

- faire l'isolement, l'identification et la taxonomie moléculaire des mycobactéries;

- cribler de l'activité anti-mycobactérienne de substances naturelles par la méthode à la résazurine.

Des mycobactéries ont été isolées dans 62% des 42 échantillons d'eau collectés entre décembre 2004 et février 2005. La majorité étaient des *M. intracellulare* (complexe *M. avium* ou MAC). Ont été aussi identifiées des *M. peregrinum* et des mycobactéries saprophytes comme *M. phlei*, *M. hassiacum*, *M. flavescens-like* et *M. pulveris*.

Environ 200 substances naturelles malgaches ont été testées. Quelques unes avaient une activité inhibitrice sur la croissance de la souche *M. bovis* BCG, mais ces résultats restent à confirmer. Le criblage de cette collection de substances naturelles sur des souches mycobactériennes potentiellement pathogènes (comme MAC) est en cours.

MALADIES VIRALES

RESPONSABLES SCIENTIFIQUES

- **JM Reynes**, vétérinaire Ph D, chef de l'Unité de Virologie
- **M Rakoto Andrianarivelo**, médecin Ph D, adjoint au chef de l'Unité de Virologie
- **SF Andriamandimby**, médecin, adjoint au chef de l'Unité de Virologie

SCIENTIFIQUES ASSOCIES

Unité de Virologie

- **R Razafindratsimandresy**, étudiant en thèse, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo

COLLABORATIONS

Laboratoire National OMS de Référence pour la Poliomyélite et la Rougeole

- **B Randriamanalina, F Razaiarimanana**, Service de la Vaccination, Ministère de la Santé et du Planning familial
- **L Tapsoba**, OMS Antananarivo
- **F Kasolo, C Byabamazima**, OMS/AFRO (Poliomyélite)
- **A Dosseh**, OMS/AFRO (Rougeole)
- **N Gumede**, NICD, Johannesburg, Laboratoire Régional OMS pour la Poliomyélite
- **M Masango**, NICD, Johannesburg, Laboratoire Régional OMS pour la Rougeole
- **“Comité de Coordination Inter-Agences”** pour le programme élargi de vaccination (PEV)

Laboratoire National OMS de Référence pour la Grippe

- **L Tapsoba**, OMS Antananarivo
- **Ministère de la Santé :**
 - . **M Milaso**, Direction de la Lutte contre les Maladies Transmissibles (DLMT)
 - . **LN Rasoarizanamiarana**, Service de Lutte contre les Maladies émergentes et Réémergentes (SLMeR)
 - . **R Randriamanantsoa**, Service de Surveillance Epidémiologique
- **Système de surveillance sentinelle :**
 - . CMS Ambassade de France, Isoraka
 - . Dispensaire Adventiste, Manjakaray
 - . Dispensaire Catholique, Anosisoa - Ambohimanarina
 - . Dispensaire Catholique, Analamahitsy
 - . Dispensaire des Soeurs, Ilanivato
 - . Dispensaire Catholique, Alasora
 - . OSTIE, Behoririka

Autres

Polymorphisme du VIH1 aux Seychelles

- **A Chetty, J Hollanda**, Centre de Référence pour le VIH, Hôpital Victoria, Mahé-Seychelles

SOUTIENS FINANCIERS

- Ministère français des Affaires Etrangères (FSP étude de la résistance aux agents antiinfectieux)
- OMS
- Direction des Services Vétérinaires
- Délégation Générale au Réseau International des Instituts Pasteur
- Coopération Allemande, GTZ
- Institut Pasteur de Madagascar.

DECOMPOSITION DU PROGRAMME

ACTIVITES DE RECHERCHE

- Polymorphisme du VIH-1 aux Seychelles
- Paramyxovirus et chauves-souris à Madagascar
- Lyssavirus et chauves-souris à Madagascar
- Herpesvirus et chauves-souris

ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE *(voir page 55)*

- 1- Laboratoire National de référence OMS pour la poliomyélite
 - 2- Laboratoire National de référence OMS pour la rougeole
 - 3- Laboratoire National de référence OMS pour la grippe
 - 4- Laboratoire National de référence pour la rage
-

ACTIVITES DE RECHERCHE

Polymorphisme du HIV-1 aux Seychelles

R Razafindratsimandresy, JM Reynes

Ce programme est une application au projet de mise en place de plateforme de génotypage pour le VIH-1 à Madagascar dans le cadre de la surveillance de la résistance aux anti-infectieux, en particulier ici les antirétroviraux (financement Fond de Solidarité Prioritaire, Ministère français des Affaires Etrangères). Ce programme d'application, financé par la GTZ en septembre 2005, a été conduit en collaboration avec les Drs A Chetty et J Hollanda, du Centre de Référence pour le VIH, Unité de Lutte contre les Maladies Transmissibles, Hôpital Victoria de l'île Mahé et l'Unité d'Epidémiologie de l'IPM.

Objectifs

1. Décrire les sous-types de VIH-1 présents aux Seychelles chez des patients chroniquement infectés naïfs de traitement antirétroviral
2. Décrire chez ces souches la prévalence des mutations de résistance MDR aux différentes classes d'antirétroviraux

Matériel et Méthodes

Quarante patients ont été inclus dans l'étude. Il s'agissait de patients consécutifs chroniquement infectés et consultant du 8 octobre 2005 au 18 juin 2006 le centre de référence VIH dans l'unité de lutte contre les maladies transmissibles. L'étude avait été approuvée par le Comité National d'Ethique aux Seychelles et un consentement informé écrit a été obtenu de chaque participant. Ils avaient tous au moins 18 ans, résidaient aux Seychelles plus de 6 mois par an et depuis au moins un an et étaient naïfs de traitements antirétroviraux (ARV) au moment de l'inclusion. La voie de contamination était probablement sexuelle. Trente sept venaient de Mahé et les autres de Praslin. Ils avaient été détectés infectés par le VIH-1 par un test ELISA (Genscreen plus HIV Ag-Ab, Bio-rad, Marnes la-Coquette, France) et un test Western-Blot (HIV-1 New LAV-Blot, Biorad, Marnes la-Coquette, France). Tous sauf un avaient découvert leur séropositivité depuis moins de 20 mois. Les caractéristiques des patients sont indiquées dans le tableau. Cinq consultants pendant la période d'inclusion n'ont pas accepté de participer à l'étude (quatre expatriés et un Seychellois).

Le génotypage a été réalisé selon une technique classique (rapport annuel 2005 de l'IPM).

Tableau : Caractéristiques cliniques et biologiques des 40 patients Seychellois infectés par le VIH-1

Caractéristiques	Nombre
Sexe	
Femme (%)	18 (45)
Homme (%)	22 (55)
Age moyen (IQR), an	35,5 [27-44,5]
Médiane numération cellules CD4+ T / mm ³ (IQR)	387 [165-1067]
Stades CDC	
A1 (%)	14 (35)
A2 (%)	12 (30)
A3 (%)	3 (7,5)
B2 (%)	1 (2,5)
C2 (%)	2 (5)
C3 (%)	8 (20)

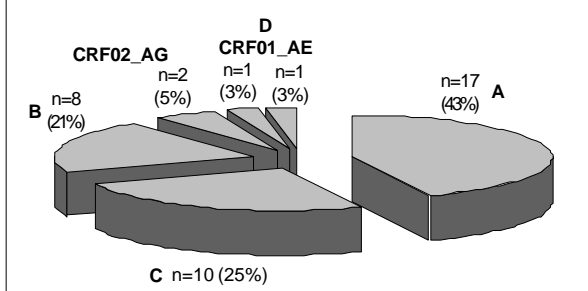
L'amplification de prot et des parties de rt et env (C2V3) a été positive dans tous les cas sauf une fois (le gène env de l'isolat d'un patient). En conséquence, le résultat du sous-typage fondé sur les séquences des 3 gènes amplifiés a été disponible pour 39 des 40 souches. Sept sous-types ou CR F ont été détectés parmi les 39 souches. Le sous-type A1 était la forme prédominante, suivi par le sous-type C (figure). Le sous-type A1 a été détecté pour la souche dont seulement 2 gènes ont pu être amplifiés (rt et prot). Nous n'avons pas observé d'association entre la distribution des sous-types et celle des résidences des patients. Une seule MDR a été détectée dans les séquences rt : une souche de sous-type B portait la MDR K70E conférant une résistance possible au Tenofovir. Des MDR mineures ont été détectées dans prot, associées pour certaines d'entre elles au polymorphisme de sous-type, par exemple I13V, M36I, H69K (résultats non montrés). Deux isolats de sous-type A1 portant l'association de 4 à 5 MDR comme I13V, K20R, L33F, M36I, H69K, présentaient une résistance possible au tipranavir/ritonavir.

Il s'agit de la première étude décrivant les sous-types de VIH-1 circulant aux Seychelles. La situation aux Seychelles (grande diversité de sous-types et faible prévalence) est semblable à celle que nous avons observée à Madagascar. Elle est en faveur d'entrées récentes et multiples dans le pays. Le sous-type A (ou CRF02_AG) est trouvé prédominant comme nous l'avons observé également à Madagascar. Ce résultat confirme le gradient de prévalence de ce sous-type en Afrique, prévalence diminuant d'Ouest en Est jusqu'à la Réunion, en passant par l'Ouganda, le Kenya, le Burundi et la Tanzanie ainsi que la présence minoritaire du sous-type C dans cette zone. Cependant, le sous-type C a été trouvé aux Seychelles comme le 2^{ème} sous-

type le plus prévalent. Ce sous-type est suspecté d'avoir une meilleure capacité à être transmise. De nouvelles études surveillant la prévalence de l'infection par le HIV et la distribution des sous-types dans l'archipel devrait permettre de suivre l'évolution de ce sous-type dans l'archipel.

Aucune des souches n'a été trouvée résistante aux antirétroviraux. En conséquence, la prévalence de résistance aux inhibiteurs de la transcriptase inverse ou de la protéase est du même ordre que celle attendue (0-5%) chez les sujets non traités dans les pays où les traitements antirétroviraux ont été récemment introduits (<http://www.who.int/3by5/publications/guidelines/en/execsumm.pdf>). Notre échantillon comprend des individus chroniquement infectés alors que l'OMS recommande de baser une surveillance sur les prélèvements de patients récemment infectés. Or, à cause de l'incidence actuelle très faible et de la taille de la population aux Seychelles, il sera difficile d'obtenir un échantillon de la taille requise pour surveiller la résistance parmi des patients récemment infectés naïfs de traitement antirétroviraux. En conséquence, la surveillance de la résistance du VIH-1 aux anti-rétroviraux devrait se focaliser sur l'émergence de résistance dans la population commençant un traitement de première ligne avec des prélèvements avant le début du traitement, 12 mois après et en cas d'échec ou de changement de molécules antirétrovirales.

Figure : Distribution des sous-types pour 39 isolats HIV-1 des Seychelles



Paramyxovirus et chauves-souris à Madagascar

Investigateur principal : E Jeanmaire
 IPM : R Rakoto Rakotomalala Ravaorisoa, GM Razafitrimo,
 R Razafindratsimandresy, NS Andriamamonjy,
 JE Razainirina, JM Reynes

Des virus de la sous-famille des *Paramyxovirinae* ont été associés au cours des dix dernières années à l'émergence de nouvelles maladies chez l'homme et chez l'animal. Quatre de ces nouveaux virus ont été décrits dans la région pacifique Ouest et ont pour particularité de partager un même réservoir, des chauves-souris frugivores du genre *Pteropus*. Une espèce du genre

Pteropus est présente à Madagascar, *Pteropus rufus*. Dans le cadre d'une Action Concertée Inter-Pasteurienne (ACIP), nous avons recherché ces virus chez les chauves-souris frugivores de Madagascar. Nous avons montré la présence des anticorps neutralisants dirigés contre des paramyxovirus chez ces animaux, notamment dans la région de Marozevo, chez des individus d'une colonie de l'espèce *Eidolon dupreanum*.

Suite à ce résultat, des collectes de prélèvements (sang, urine ou écouvillon de gorge) ont été organisés mensuellement en 2006, chez cette colonie et sur une autre, géographiquement proche, comprenant des individus de la même espèce (cf infra). Le but était d'isoler le virus de la sous-famille des *Paramyxovirinae* responsable des séroconversions.

Les tentatives d'isolement de ces virus ont été effectuées sur cellules Vero E6 (cellules de rein de singe) à partir des prélèvements urinaires et pharyngés collectés.

Sur les 703 prélèvements inoculés sur cellules Vero E6, aucun n'a produit d'ECP compatible avec celui d'un paramyxovirus (formation de syncytium). Par contre, pour 11 prélèvements (10 de gorge et un d'urine), nous avons observé un effet cytopathogène compatible avec celui d'un herpèsvirus (foyers de lyse focalisés avec cellules ballonisées en bordure). Ces virus ont été identifiés comme appartenant à la famille des Herpesviridae.

Lyssavirus et chauve-souris à Madagascar

Dans le cadre de l'ACIP "paramyxovirus et chauves-souris", arrivée à échéance en 2005, une collection de prélèvements sanguins, urinaires et pharyngés avait été réalisée. Certains des prélèvements collectés (sang et écouvillons de gorge) ainsi que ceux collectés en 2006, ont été aussi exploitables pour la recherche de lyssavirus.

La rage est une maladie endémique à Madagascar. Son vecteur principal à Madagascar est le chien. Les chiroptères et les carnivores sauvages sont des réservoirs sauvages de lyssavirus sur tous les continents. La recherche de lyssavirus chez les chiroptères malgaches s'est inscrite comme une contribution à un éventuel programme de lutte contre la rage à Madagascar, au cours duquel il faudrait nécessairement s'intéresser à un réservoir sauvage de lyssavirus.

Matériel et méthodes

Les prélèvements effectués entre février 2004 et décembre 2006 en différents lieux ont porté sur 909

chauves-souris, appartenant à 4 des 7 familles et à 8 des 30 espèces recensées sur le territoire de Madagascar (tableau I). Ces 909 chauves-souris étaient composées de 437 femelles et 472 mâles.

La recherche de virus par isolement sur souriceaux nouveau-nés, mise en évidence de la nucléocapside de lyssavirus et recherche d'une portion de gène de lyssavirus a porté sur les prélèvements pharyngés collectés jusqu'en octobre lors du suivi des colonies et qui restaient en quantité suffisante.

Les échantillons ont été groupés par 10.

Tableau I : Nombre de prélèvements obtenus selon l'espèce et le lieu de capture

Régime alimentaire et famille	Espèce	Lieux de capture	Nb capturés	Nb plvt sanguins	Nb plvt urinaires/pharyngés
Insectivore					
Hipposideridae	<i>Triadenops rufus</i>	Itampolo	18	18	0 / 0
Vespertilionidae	<i>Myotis goudoti</i>	Itampolo	1	1	0 / 0
	<i>Miniopterus gleni</i>	Itampolo	1	1	0 / 0
Molossidae	<i>Chaerephon pumilus</i>	Vangaindrano	22	22	0 / 0
	<i>Mops leucostigma</i>	Farafangana	14	14	0 / 0
		Vangaindrano	17	17	0 / 0
	<i>Mormopterus jugularis</i>	Itampolo	19	19	0 / 0
Frugivore					
Pteropodidae	<i>Pteropus rufus</i>	Marovoay	142	131	18 / 104 ⁶
		Marozevo	34	34	14 / 8
		Beroboka	29	29	2 / 0
		Miandrivazo	112	112	16 / 97
		Vangaindrano	38	38	13 / 32
	<i>Eidolon dupreanum</i>	Angavobe	55	54	24 / 32
		Miandrivazo	2	2	0 / 2
	Suivi des colonies Angavobe Angavokely	405	399 ⁷⁰	237 / 165	
Total			909	891⁷⁰	324 / 446⁶

en indice : nombre de prélèvements en quantité insuffisante pour être utilisés
en exposant : nombre de prélèvements non exploités

Résultats

Recherche d'ARN de lyssavirus

Au total, 420 prélèvements pharyngés ont été exploités. Ils avaient été rassemblés en 42 pools de 10 prélèvements. La recherche de lyssavirus par technique moléculaire n'a été positive pour aucun sauf un des 42 pools testés (tableau I). Le résultat de l'amplification de l'ARN de 4 pools est négatif, et celui des 37 restants est considéré comme non concluant : le gène de la β actine n'a pas été amplifié et nous ne pouvons pas exclure la présence d'inhibiteurs dans les prélèvements constituant les pools concernés. L'amplicon de la taille attendue a été séquencé. La séquence obtenue est homologue au virus rabique classique. Une confirmation du résultat est en cours pour s'assurer qu'il ne s'agit pas d'une contamination.

Au total, 763 caillots sanguins ont été étudiés. Ils

ont été broyés puis les surnageants répartis en 76 pools de surnageants de 10 animaux, et un pool de surnageants de 3 animaux. La recherche de lyssavirus par amplification génomique à partir des 77 pools n'a jamais été positive. Elle a été négative pour 43 d'entre eux, et non concluante pour les 34 restants.

Tentatives d'isolement viral

Sur les 77 pools de caillots inoculés sur souriceaux nouveau-nés, 10 inoculations ont été positives, 2 sont encore en cours et 65 ont été négatives. Les souches ont été adaptées en effectuant un deuxième passage (P2), voire un troisième passage (P3) (tableau II).

Les détections d'antigènes de lyssavirus par IFD à partir des cerveaux des souriceaux malades ont été négatives, ainsi que les recherches de la portion de gène L de lyssavirus par amplification génomique. Il ne s'agissait donc pas d'un lyssavirus.

Deux de ces isolats ont été envoyés au Centre Collaborateur OMS de référence et de recherche pour les arbovirus et les virus de fièvres hémorragiques (CRORA) hébergé par l'Institut Pasteur de Dakar qui possède une collection d'anti-sérums permettant l'identification de 204 virus. Ils ont été identifiés comme étant le virus Ife. Les autres isolats sont encore en cours d'amplification avant d'être envoyés au CRORA.

Tableau II : caractéristiques des isolats obtenus sur souriceaux nouveau-nés

N° pool	Jour de morbidité post-inoculation (après adaptation)	Animal responsable (espèce et sexe)	Date et lieu de capture	Identification du virus
Pool 19	J+6	<i>Mormopterus jugularis</i> , Femelle	27/05/2005, Itampolo	en cours
Pool 25	J+6	<i>Eidolon dupreanum</i> , Mâle	21/06/2006, Angavokely	virus Ife
Pool 26	J+6	<i>Eidolon dupreanum</i> , Mâle	21/06/2006, Angavokely	virus Ife
Pool 33	J+6	A déterminer		
Pool 47	J+7	<i>Pteropus rufus</i> , Mâle	23/03/2005, Miandrivazo	en cours
Pool 56	J+6	<i>Pteropus rufus</i> , Mâle	23/05/005, Marovoay	en cours
Pool 61	J+6	<i>Pteropus rufus</i> , Femelle	16/07/2005, Vangaindrano	en cours
Pool 62	J+9	A déterminer		
Pool 68	J+7	<i>Eidolon dupreanum</i> , Femelle	20/06/2005, Vangaindrano	en cours
Pool 70	J+8 - J+9	<i>Eidolon dupreanum</i> , Femelle	20/06/2005, Angavobe	en cours

Discussion

Cette étude n'a pas permis de détecter un lyssavirus dans notre échantillon de chauves-souris à Madagascar. Le choix des prélèvements a été dictée par l'absence d'euthanasie. Il est possible que l'examen des cerveaux aurait été plus performant. Malgré tout, les prélèvements choisis se sont montrés performants dans d'autres études. Cependant, la prévalence d'infection active lors d'infection par un lyssavirus dans une colonie est généralement faible (estimée comprise entre 0,1% et

2,9%). Ceci implique que pour pouvoir isoler un lyssavirus, il faut échantillonner une forte proportion de la colonie. La proportion d'animaux de chaque colonie échantillonnée dans notre étude est très faible, à l'exception des deux colonies d'Angavobe et d'Angavokely. Ces deux colonies ont fait l'objet d'un échantillonnage plus important, mais malgré tout peut-être insuffisant. Ceci pourrait expliquer l'absence de Lyssavirus dans notre étude alors que la présence d'espèces des genres *Myotis*, *Pteropus* et *Miniopterus* trouvées porteuses de Lyssavirus dans d'autres régions à Madagascar, laisse penser qu'un lyssavirus associé à des frugivores ou des insectivores a toutes les chances de circuler dans la grande île.

Caractérisation moléculaire des herpesvirus isolés de chauves-souris à Madagascar et au Cameroun

Introduction

La famille des *Herpesviridae* comporte plus de 125 espèces virales. Sur la base de leurs propriétés biologiques (tropisme cellulaire) et moléculaires (organisation du génome), la famille des *Herpesviridae* a été classée en trois sous-familles : *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* et *Gammaherpesvirinae*. Récemment, le groupe d'études pour la famille des *Herpesviridae* de "l'International Committee on Taxonomy of Viruses" a proposé de réviser cette classification. L'ordre des *Herpesvirales* nouvellement créé serait subdivisé en 3 familles : celle des *Herpesviridae* (regroupant les herpesvirus des mammifères, des oiseaux et des reptiles), des *Alloherpesviridae* (regroupant les herpesvirus des poissons et des batraciens) et celle des *Malacoherpesviridae* (regroupant les herpesvirus des invertébrés). La famille des *Herpesviridae* serait toujours subdivisée en 3 sous-familles : *Alpha*, *Beta* et *Gammaherpesvirinae* (tableau III).

Huit herpesvirus, propres à l'homme, ont une importance en santé publique. Certains autres ont une importance zoonotique comme le CeHV-1 (*Cercopithecine herpesvirus 1* ou virus B), le SuHV-1 (ou herpesvirus porcin 1 responsable de la maladie d'Aujeszki chez le porc). D'autres ont une importance économique comme GaHV-2 et 3 responsables de la maladie de Marek chez les oiseaux, ou AIHV-1 responsable du coryza gangréneux chez les bovins. Beaucoup d'espèces sont encore non classées et il est très vraisemblable qu'il existe encore de nombreuses espèces à découvrir. En effet, ces virus ont jusqu'à présent une grande spécificité d'hôtes et il existe, rien

que pour les mammifères, un nombre important d'espèces chez lesquelles ces virus n'ont pas été retrouvé. Dans l'ordre des chiroptères de la classe des mammifères, aucun virus n'est officiellement décrit.

Il existe cependant dans la littérature des descriptions d'herpesvirus associés à ces mammifères. Nous avons de notre côté isolé à l'IPM des souches d'herpesvirus à partir de prélèvements pharyngés d'individus de l'espèce *Eidolon dupreanum* capturée en 2006.

Notre travail a consisté en une première tentative de classement au sein de la famille des *Herpesviridae* de ces virus de chauves-souris isolés à Madagascar et au Cameroun.

Matériel et méthodes

Les isolats viraux

Huit isolats ont été étudiés (tableau II) :

- les isolats de Madagascar ont été obtenus par inoculation du prélèvement (écouvillon de gorge) sur cellules Vero E6. Un effet cytopathogène (ECP) a été observé débutant au plus tôt au 3^{ème} jour. L'ECP était du type lytique avec ballonnisation des cellules en périphérie des foyers, proche de celle observée par le HHV-1 ou 2 sur les mêmes cellules;

- l'ADN des isolats camerounais nous a été envoyé par le Centre Collaborateur OMS de Référence et de Recherche pour les Arbovirus et les virus responsables de Fièvres Hémorragiques (CRORA) à l'IP de Dakar.

Tableau III : Caractéristiques des isolats d'herpesvirus de chauves-souris

Isolats	Lieu de capture	Hôte	Date de capture	Prélèvement
CS-732	Madagascar	<i>Eidolon dupreanum</i>	10/05/2006	Prélev. pharyngé
CS-735	"	<i>Eidolon dupreanum</i>	"	"
CS-736	"	<i>Eidolon dupreanum</i>	"	"
CS-739	"	<i>Eidolon dupreanum</i>	"	"
CS-754	"	<i>Eidolon dupreanum</i>	21/06/2006	"
YV6	Cameroun	<i>Eidolon helvum</i>	13/04/1971	?
YV7	"	<i>Eidolon helvum</i>	"	?
YV9	"	<i>Eidolon helvum</i>	"	?

Analyse moléculaire

L'ADN des isolats malgaches a été extrait des surnageants de culture infectés. Les ADN extraits ont été amplifiés par PCR avec le couple d'amorces

dégénérées DFASA (sens) et GDTD1B (anti-sens) spécifiques de la famille des *Herpesviridae* et ciblant une partie conservée d'UL30 ("unique large"), sous-unité catalytique du complexe de l'ADN polymérase. La taille des produits attendus était de 536 pb. Les produits d'amplification ont été ensuite envoyés à la compagnie "Genome Express" (Meylan, France) pour être séquencés dans les deux sens avec ces amorces citées ci-dessus.

Les séquences nucléotidiques reçues ont été vérifiées avec le logiciel CEQ2000XL. Les séquences nucléotidiques de chaque isolat ont été ensuite alignées entre elles pour celles de Madagascar ainsi que celles de Cameroun. Une séquence a été alors choisie pour représenter les souches identiques et continuer la suite de l'analyse.

La reconstruction phylogénétique a été effectuée avec les séquences étudiées en acides aminés et un lot de séquences couvrant la même région provenant de différentes espèces d'herpesvirus représentatives des genres et des sous-familles. Nous avons régénéré l'arbre à partir des séquences formées de 155 acides aminés en utilisant le logiciel MEGA 3.1. La méthode de "Neighbor-Joining" (NJ) avec le modèle correction de Poisson a été utilisée.

Résultats

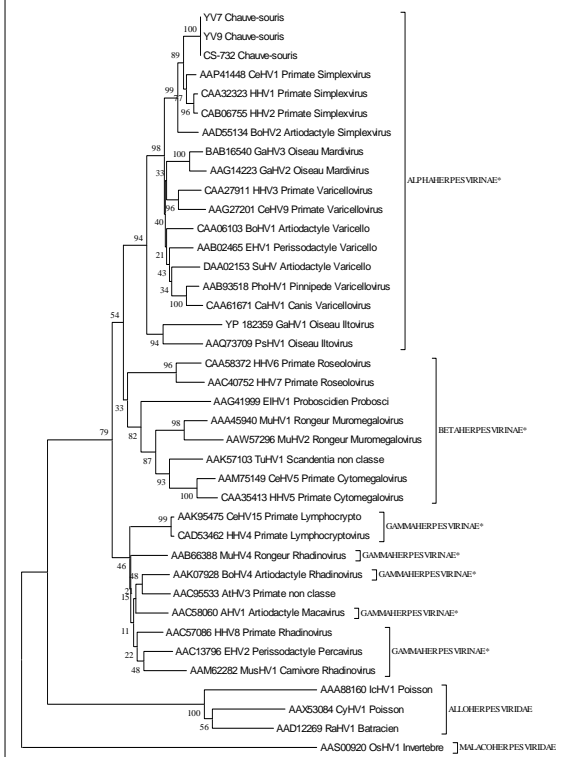
Les 8 ADN ont pu être amplifiés et les séquences sens et anti-sens ont été obtenues pour tous les amplicons sauf pour l'amplicon de l'isolat YV6 (séquence sens seulement disponible). Après vérification des séquences et délétion des parties correspondantes aux amorces, nous avons obtenu un fragment de 466 nucléotides pour les 7 isolats et de 410 pb pour le YV6.

La comparaison des séquences des 5 isolats malgaches a montré 100% d'identité nucléotidique (nt) pour ces séquences (aucune différence visible sur l'alignement). Cependant, la comparaison des séquences des 3 isolats de Cameroun a montré qu'ils avaient une identité nt de 100% sur la portion correspondant à la longueur de la séquence courte de YV6 (410 pb). Par contre, ce pourcentage était de 99,57% (464/466 nt) entre les deux isolats YV7 et YV9 (figure 1). Par conséquent, nous avons poursuivi notre étude avec la séquence de l'isolat CS-732 de Madagascar et celles des 2 isolats YV7 et YV9 de Cameroun. Les divergences observées entre les isolats obtenus de chaque pays étaient des mutations silencieuses puisque les isolats présentaient 100% d'identité protéique.

La reconstruction phylogénétique de ces 3 isolats à partir des séquences protéiques a montré qu'ils

appartiennent tous au genre *Simplexvirus* de la sous-famille des *Alphaherpesvirinae* (figure).

Figure : Arbre phylogénétique construit à partir de 155 résidus d'acides aminés traduits à partir de fragment de 466 pb de la portion du gène codant pour l'ADN polymérase. La longueur des branches est proportionnelle à la distance d'évolution (barre d'échelle)



Le nom de chaque isolat est présenté comme suit : numéro d'accès dans la base de données – nom – hôte – genre (si connu). AthV : *Ateline herpesvirus* ; BoHV : *Bovine herpesvirus* ; CaHV : *Canid herpesvirus* ; CeHV : *Cercopithecine herpesvirus* ; CyHV : *Cyprinid herpesvirus* ; EHV : *Equid herpesvirus* ; EIHV : *Elephantid herpesvirus* ; GaHV : *Gallid herpesvirus* ; HHV : *Human herpesvirus* ; IctHV : *Ictalurid herpesvirus* ; MuHV : *Murid herpesvirus* ; MusHV : *Mustelid herpesvirus* ; OsHV : *Ostreid herpesvirus* ; PhoHV : *Phocid herpesvirus* ; PsHV : *Psittacid herpesvirus* ; RaHV : *Ranid herpesvirus* ; SuHV : *Suid herpesvirus* ; TuHV : *Tupaiid herpesvirus*.

Conclusion

Sur la portion de séquences étudiée, les 5 isolats d'herpesvirus isolés chez des chauves-souris de Madagascar étaient identiques. Ils divergeaient en nucléotides de 0,21% et de 0,64% par rapport aux isolats camerounais YV7 et YV9 mais avaient la même séquence protéique. La reconstruction phylogénétique à partir des séquences protéiques a montré que ces virus appartenaient au genre *Simplexvirus* de la sous-famille des *Alphaherpesvirinae*. Ces isolats ont été isolés chez les chauves-souris *Eidolon helvum*, africaine, et *E. dupreanum*, malgache, seules espèces au monde dans le genre et séparées géographiquement par le canal du Mozambique. Cela peut être en faveur d'une conservation très élevée de ce fragment de gène codant pour l'ADN polymérase chez les herpesvirus infectant ces deux espèces de chauve-souris. Cela peut-être

également en faveur d'une même espèce virale portée par ces deux espèces. Un séquençage complet de génome permettrait sans doute de trancher. Nous avons récemment isolé et identifié en collaboration avec le CRORA, à partir du sang d'individus de l'espèce malgache le virus Ife. Ce virus a été également isolé d'individus de l'espèce *E. helvum* capturés au Nigeria et au Cameroun en 1971 et en Centrafrique en 1974. Il est possible qu'il y ait des superpositions spatiales des deux espèces (encore jamais observées) responsables d'un échange de population virale. En effet, des contacts

fréquents existent déjà en particulier chez les Molossidae (Microchiroptères) malgaches et africaines pourtant séparés par le canal du Mozambique (S. Goodman, communication personnelle). Il est possible qu'une autre espèce de chauves-souris traversant le canal joue le rôle d'intermédiaire entre les deux espèces du genre *Eidolon*. D'autres virus pourraient être partagés par ces deux espèces de chauves-souris et en particulier le lyssavirus Lagos Bat isolé déjà chez *Eidolon helvum*.

ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

(voir page 56)

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.

Par ailleurs, des missions d'expertise ou des interventions peuvent être effectuées à la demande du Ministère de la Santé et du Planning Familial. 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 Poliomyélite
- Laboratoire National de Référence OMS pour la Grippe
- Laboratoire National de Référence OMS pour la Rougeole

- Laboratoire National de Référence des Mycobactéries
- Laboratoire Central de la Bilharziose
- Laboratoire National de Référence pour la Rage
- Laboratoire Central de la Peste
- Laboratoire de Référence National d'Analyse des Eaux dans les Industries Agro-alimentaires et de Contrôle des Denrées Animales ou d'Origine Animale.

Activités des Centres de Référence



1- Activités du Laboratoire Central de la Peste (LCP)

1.1 Surveillance de la peste humaine à Madagascar

IPM : *M Ratsitorahina, C Raharimanana, V Andrianaivoarimanana, M Rajerison, JL Soares, L Rahalison*

Laboratoire Central de la Peste : *M Ratsimba, N Randriananja, L Ralafiarisoa, ML Ralimanantsoa*

Ministère de la Santé et du Planning Familial : *DULMT/SLME/ Div Peste - SSPFD foyers de peste*

• Données de laboratoire et situation épidémiologique

La peste, grave problème de Santé Publique à Madagascar, est due à *Yersinia pestis*. La maladie se transmet accidentellement à l'homme par la piqûre des puces infectées de rats. La maladie reste endémique sur les hautes terres centrales. Une surveillance de la peste humaine est en place dans le cadre du Programme National de Lutte contre la Peste depuis 1997. Le Laboratoire Central de la Peste (LCP), sous la supervision technique de l'Unité Peste de l'IPM, est chargé d'assurer cette surveillance du moins pour le volet diagnostic biologique. Toutes les déclarations venant des Formations Sanitaires (FS) des cas suspects de peste munies en principe de prélèvements parviennent au LCP. Les méthodes utilisées pour le diagnostic de routine au laboratoire sont la bactériologie (culture et inoculation à la souris) et le TDRA (Test de Diagnostic Rapide de Détection d'Antigène F1). Les données sont saisies dans une base de données informatisée (logiciel ACCESS). Elles permettent l'analyse de la situation épidémiologique de la peste à Madagascar.

En 2006 (données du 12/3/2007), 412 cas suspects (421 en 2005) étaient déclarés au laboratoire par 32 Services de Santé et du Planning Familial de District (tableau I). Le taux de confirmation (par la bactériologie) était de 40% soit 151 confirmés / 377 prélevés (31,1% en 2005), le taux de TDRA positifs était de 62,6% soit 236 positifs/377 prélevés. Les indicateurs de performance de programme sont donnés dans le tableau II.

Le sex-ratio H/F était égal à 1,25 (229/183) dans l'ensemble des cas déclarés, il était de 1,43 dans l'ensemble des cas confirmés par la bactériologie.

Chez les cas déclarés, l'âge moyen était de 17,1 ans avec une étendue de 1-69 ans et l'âge médian était de 14 ans. Chez les cas confirmés, l'âge moyen était de 18,9 ans avec une étendue de 1-60 ans et un âge médian de 15 ans.

La peste bubonique représentait 97,4 % (282/392) des cas déclarés (89,9% en 2005).

Chez les cas confirmés, on retrouvait le même taux de peste bubonique qu'en 2005 c'est-à-dire 96,6% (144/149). La peste pulmonaire déclarée a diminué, elle représentait 2,55% (10/392) des cas contre 10,1% en 2005. Chez les cas confirmés, elle était de 3,35% (5/149) vs 3,6% en 2005. Sur les 412 cas déclarés, 4,8% (20/412) dont 2 étaient confirmés par la bactériologie n'étaient pas renseignés sur la forme clinique contre 10% en 2005.

La létalité globale chez les cas déclarés était de 12,37% (51/412) et de 16,55% chez les cas confirmés (25/151). Sur les 51 décès déclarés, 32 étaient confirmés en bactériologie et/ou positifs en TDRA, 4 étaient négatifs et 15 cas n'étaient pas prélevés.

Sept SSPFD, qui n'avaient pas déclaré de cas en 2005, en ont notifié cette année. Il s'agissait d'Amparafaravola (4 cas), d'Andapa (5 cas), de Bealanana (6 cas), de Befandriana Nord (6 cas), de Fenoarivo (26 cas), d'Ikalavony (6 cas) et de Moramanga (13 cas).

Tableau I : Répartition des cas de peste déclarés (arrêtée le 12/3/2007 date de réception) par les SSPFD et résultats de laboratoire (bactériologie et TDRA)

SSPFD	Non prélevés	Bactériologie		TDRA LCP		Total
		C	N	P	N	
Ambalavao	5	11	8	17	2	24
Ambatofinandrahana	2	4	2	5	1	8
Ambatolampy	-	-	1	-	1	1
Ambohidratrimo	1	5	17	7	15	23
Ambohimahaso	1	1	8	3	6	10
Amositra	3	8	21	15	14	32
Amparafaravola	2	1	1	2	-	4
Andapa	1	-	4	2	2	5
Anjozorobe	1	3	6	5	4	10
Ankazobe	-	20	7	27	0	27
Anta-Avaradrano	-	2	3	3	2	5
Anta-Renivohitra	-	1	14	2	13	15
Antanifotsy	1	1	1	1	1	3
Antsirabe II	-	13	18	25	6	31
Arivonimamo	1	4	3	5	2	8
Bealanana	-	1	5	5	1	6
Befandriana Avaratra	3	-	3	3	0	6
Betafo	-	4	4	5	3	8
Fandriana	1	2	2	3	1	5
Faratsiho	-	4	1	4	1	5
Fenoarivo	2	13	11	19	5	26
Fianarantsoa I	-	1	3	1	3	4
Fianarantsoa II	6	7	17	11	13	30
Ikalavony	-	1	5	4	2	6
Mahajanga I	-	-	19	5	14	19
Manandriana	1	5	11	6	10	17
Manjakandriana	-	5	7	5	7	12
Miarinarivo	1	5	5	7	3	11
Moramanga	-	11	2	12	1	13
Soavinandriana	1	2	1	2	1	4
Tsaratanana	-	1	2	3	0	3
Tsiroanomandidy	2	15	14	22	7	31
Total	35	151	226	236	141	412

SSPFD : Service de Santé et du Planning Familial de District

TDRA : Test de diagnostic Rapide de détection d'Antigène

LCP : Laboratoire Central peste

C : confirmé N : négatif P : positif

Les SSPFD (8) qui ont déclaré le plus de cas en 2006 (plus de 20 cas/an chacun) étaient ceux d'Ambohidratrimo, d'Ambalavao, d'Ambositra, d'Ankazobe, d'Antsirabe II, de Fenoarivo, de Fianarantsoa II et de Tsiroanomandidy. Le maximum de déclaration se trouvait au SSPFD d'Ambositra.

Six SSPFD ont déclaré en tout 10 cas de peste pulmonaire dont 6 étaient confirmés en bactériologie et/ou TDRA. Il s'agissait d'Ambositra, d'Antananarivo Renivohitra, d'Antsirabe II, d'Arivonimamo, de Fenoarivo et de Tsiroanomandidy.

Sur les 15 cas déclarés au SSPFD d'Antananarivo Renivohitra, 1 était résidant du Fivondronana d'Ambohidratrimo, 3 du Fivondronana d'Antananarivo Atsimondrano, 3 du Fivondronana d'Antananarivo Avaradrano et les 8 restants du Fivondronana d'Antananarivo Renivohitra même. Parmi ces derniers, 7 étaient des cas de peste bubonique et 1 était un cas de peste pulmonaire. Aucun cas n'était confirmé en bactériologie ou positif en TDRA.

Sur les 13 déclarations du SSPFD de Mahajanga I, aucun cas n'était confirmé par la bactériologie et cinq cas étaient positifs en TDRA.

Le taux de prélèvement était de 91,5% (377/412) vs 90% en 2005. Le taux de confirmation par bactériologie a sensiblement augmenté par rapport à 2005 ($p=0.01$). Six SSPFD étaient particulièrement performants en terme de taux de prélèvement et de taux de confirmation (supérieurs aux moyennes nationales), il s'agissait d'Ankazobe, Antsirabe II, Faratsiho, Fenoarivo, Moramanga et Tsiroanomandidy.

Tableau II : Indicateurs de programme peste de 2002 à 2006 (arrêté le 12 mars 2007)

Indicateurs	2002	2003	2004	2005	2006
Nb cas déclarés	658	933	1214	421	412
% cas prélevés	85,7	90,1	96,5	90	91,5
Taux de confirmation bactériologique	37,6	38,4	35,8	31,1	40
Taux de confirmation par TDRA	54,1	63	63	57	62,6
Taux de peste pulmonaire (cas déclarés)	1,7	5,8	10,3	10,1	2,5
% forme pulmonaire (cas confirmés)	1,0	4,2	2,8	3,6	3,3
Létalité globale %	14,2	11,8	8,1	8,3	12,4
Létalité parmi les cas confirmés %	22,5	19,9	14,8	24	16,5
Nb SSPFD déclarants	31	32	34	27	32

SSPFD : Service de Santé et du Planning Familial du District
TDRA : Test de diagnostic Rapide de détection d'Antigène

La tendance générale à la baisse du nombre de cas déclarés et confirmés de peste à Madagascar observée en 2005 s'est confirmée en 2006. Le taux de confirmation biologique s'est sensiblement amélioré. La létalité due à la peste avec certitude n'est pas descendue en dessous des 10%.

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

IPM : *C Raharimanana, V Andrianaivoarimanana, M Rajerison, L Rahalison*
Laboratoire Central de la Peste : *M Ratsimba, N Randriananja, L Ralafiarisoa, ML Ralimanantsoa*
Ministère de la Santé et du Planning Familial : *DULMT / SLME/Div Peste - SSPFD foyers de peste*

Pour le diagnostic de routine de la peste, les prélèvements passés en bactériologie au LCP en vue d'un isolement de *Y. pestis* sont :

- des broyats de puces et de rates des rats dans le cadre de la surveillance de la peste murine
- des prélèvements de cas suspects vivants envoyés par les FS (bubon et/ou crachat) et post-mortem (foie et poumon droit, gauche).

Cent quarante sept souches de *Y. pestis* dont 2 issues de puces, 6 issues de rate des rats et 139 issues de prélèvements humains ont été isolées au LCP. Parmi les souches humaines, 135 provenaient de pus de bubon, 2 de crachats et 2 de prélèvements post mortem (poumon).

La sensibilité de ces souches à 6 antibiotiques recommandés pour le traitement de la peste (streptomycine, gentamycine, sulfamides (sulfaméthoxazole-triméthoprime), tétracycline, ampicilline et chloramphénicol a été testée.

Cent quarante-six souches étaient sensibles aux 6 antibiotiques testés. Une souche s'est avérée être résistante à l'ampicilline : elle provenait d'un cas de peste bubonique habitant le fokontany de Diankazo, soigné dans la FS d'Antsahafilo du SSPFD d'Ambohidratrimo de la Région d'Analamanga.

La biothèque de l'Unité Peste est aujourd'hui riche de près de 5 147 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, L Rahalison*
Laboratoire Central de la Peste : *L Ralafiarisoa, M Ratsimba, N Randriananja, ML Ralimanantsoa*
Ministère de la Santé et du Planning Familial : *DULMT/SLME/Div Peste - SSPFD foyers de peste*

Depuis la diffusion en 2002 du Test de Diagnostic Rapide de la Peste dans les foyers endémiques à Madagascar, le Laboratoire Central de la Peste (LCP) supervise son utilisation afin de veiller à sa bonne application et afin de pouvoir répondre à la survenue d'anomalie de quelque origine qu'elle soit.

Cette supervision a consisté à :

- comparer les résultats des tests de TDRA effectués

sur le même prélèvement au niveau du Laboratoire Central de la Peste et au niveau de la périphérie 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,
- de soutenir lorsque nécessaire par une formation à l'utilisation du TDRA,
- mener une enquête sur l'utilisation du TDRA par les agents de santé (questionnaire à l'attention des utilisateurs),
- et de doter en matériels (kits de prélèvement, TDRA, mallettes, affiches, guides, atlas peste) lorsque nécessaire.

En 2006, Le LCP a effectué des missions sur le terrain, prioritairement dans les 22 SSPFD qui ont présenté des singularités par rapport aux résultats des tests bandelettes, c'est-à-dire - des discordances de résultats de TDRA entre la FS et le LCP - l'absence de résultat de TDRA dans la FS sur la fiche de notification (TLO) et ce de manière rétrospective sur la période de janvier 2005 à juin 2006.

Tous les SSD (32) qui ont déclaré des cas de peste en 2006 étaient dotés en tests de diagnostic rapide. Ces 32 SSD couvraient 139 CSB. Sur ces 139 CSB déclarant des cas, 13 CSB (9,3%) semblaient ne pas être dotés de bandelette, ou étaient dotés mais n'en ont pas fait l'utilisation. Ainsi, le taux d'utilisation de la bandelette en périphérie est estimé à 90.7%. Du 01/01/05 au 31/06/06, les résultats des TDRA des CSB n'étaient pas indiqués sur 42 notifications.

Le taux de confirmation par la bandelette dans les centres périphériques était de 57.1% soit 194/340 prélèvements testés. Ce taux était de 62.8% soit 240/382 prélèvements testés au LCP (taux comparable à celui des 3 années précédentes).

Sur les 340 prélèvements testés à la fois dans les CSB et au LCP, 76.5% avaient des résultats TDRA concordants.

Sur le terrain, il nous a été possible de revoir 81 résultats discordants 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 31/81 résultats à la concordance. En effet, des erreurs de transcription ou de lecture étaient constatés. Par contre, 50/81 résultats étaient restés discordants.

Par ailleurs, il nous a été possible de revoir 39 notifications sur les 42 sans résultats TDRA et/ou sans prélèvement. L'exploitation des archives nous a permis

de constater que 33 notifications avaient en fait des résultats de TDRA mais la transcription n'a pas été faite, 6 notifications restaient sans résultats (expliqué par une rupture de stock en bandelette ou des bandelettes périmées ou tout simplement le non archivage de résultat).

La Confrontation des déclarations au niveau des FS avec celles reçues au LCP de la période du 01/01/05 au 15/06/06 a permis de constater que 34 cas (27 en 2005 et 7 en 2006) provenant de 12 CSB de 11 SSPFD n'étaient pas notifiés au laboratoire. Les explications de ces sous-déclarations par les agents de santé étaient diverses : cas finalement déclassés comme non pesteux après observation du résultat négatif au TDRA - enregistrement des contacts de pesteux comme cas de peste - affectation récente de l'agent à son poste d'où méconnaissance du circuit d'envoi des notifications et prélèvements des cas de peste au laboratoire.

Lors des descentes sur le terrain une formation sur l'utilisation des TDRA étaient dispensées. Au total, 242 personnels de santé dont 163 de CSB2, 46 de CSB1, 7 de CHD1, 1 de CHRR, 24 de BSD et 1 de CHU dans 25 SSPFD ont assisté à la formation. Il s'agissait des SSPFD d'Ambalavao, Ambohidratrimo, Ambohimahaso, Ambositra, Ambatofinandrahana, Ambatondrazaka, Anjozorobe, Antananarivo Avaradrano, Ankazobe, Antanifotsy, Antsirabe II, Arivonimamo, Betafo, Fandriana, Faratsiho, Fianarantsoa I, Fianarantsoa II, Ikalamavony, Mahajanga I, Manandriana, Manjakandriana, Miarinarivo, Moramanga, Soavinandriana et Tsiroanomandidy.

L'analyse des réponses au questionnaire à l'attention des utilisateurs et des formateurs et qui avait pour but d'évaluer leur niveau de formation en TDRA peste et les difficultés qu'ils pouvaient rencontrer a montré que: - au moins 72.6% des ces agents ont déjà reçus une formation sur l'utilisation des TDRA - 63-68% ont donné de bonnes réponses au test d'évaluation des connaissances sur l'utilisation du TDRA. Les problèmes évoqués par rapport au test étaient variables : - délai d'acheminement des prélèvements et notifications des CSB vers le SSPFD et du SSPFD vers le niveau central - ravitaillement en bandelettes - technique de ponction du bubon - lecture du test lorsque le prélèvement était sanguinolent - incompatibilité entre le diagnostic clinique et le résultat du test (cas suspect et test négatif).

Lors de nos missions de supervision, nous avons distribué en tout 693 bandelettes, 744 kits de prélèvement peste et 138 atlas. Par ailleurs, les bandelettes que nous avons trouvé périmées dans 28 CSB de 13 SSPFD ont été remplacées. Sinon, le ravitaillement normal des centres en périphérie est géré par les SSPFD.

1.2 Surveillance de la peste murine

• Peste murine dans les foyers urbains d'Antananarivo et Mahajanga

IPM : *M Ranjalahy, S Rahelinirina, J Ratovonjato, V Andrianaivoarimanana, C Raharimanana, L Rahalison*

Laboratoire Central de la Peste : *M Ratsimba, L Ralafiarisoa, N Randriananja, ML Ralimanantsoa*

Ministère de la Santé et du Planning Familial : *DRSPF - DULMT / SLME - SSPFD*

Communes Urbaines : *BMH*

Surveillance de la peste murine dans la ville d'Antananarivo

La capitale est un foyer endémique de peste. Une surveillance de la peste murine y est menée depuis 1997 vu le risque épidémique potentiel, dû notamment à la densité élevée de la population dans cette cité. Le système de surveillance est assuré par le Laboratoire Central de la Peste située à l'IPM.

La surveillance de la peste murine dans la capitale se fait d'une façon hebdomadaire dans 9 quartiers à risque. Elle a pour objectif de pouvoir disposer d'indicateurs de risques (densité murine et pulcicienne, circulation de *Y. pestis* au sein de la population de petits mammifères, sensibilité des puces aux insecticides) et de juger du niveau de circulation du bacille. Cet objectif permet de sensibiliser toutes les entités concernées à une éventualité d'apparition de cas de peste humaine.

Les 9 quartiers de captures de rongeurs étaient : Tsenabe Isotry, Analakely, Ampefiloha, Andavamamba, Andranomanalina Isotry, Andravoahangy Tsena, Antohomadinika, Anosibe Mandrangombato, Manjakaray. Les descentes sur le terrain étaient assurées par des agents du Ministère de la Santé et du Planning Familial et du BMH. Les indicateurs déterminés étaient : la sérologie anti-F1 des rats, l'index pulcicien et la bactériologie des puces (tableau III).

Sur les 469 rats capturés en 2006, on a recensé 467 *Rattus norvegicus* (RN), 1 *Rattus rattus* (RR) et 1 *Suncus murinus* (SM). Tous les animaux capturés étaient testés en sérologie et 114 lots de puces étaient passés en bactériologie.

Aucun animal n'était trouvé séropositif. L'Index Pulcicien global était de 0,9. Deux souches de *Y. pestis* étaient isolées à partir de lots des puces provenant d'Andranomanalina Isotry et de Tsenabe Isotry.

Les 5 années de suivi de la séroprévalence spécifique de la peste ainsi que de l'Index Cheopis (IC : nombre moyen de *X. cheopis* par rats) montrent la diminution continue de ces indicateurs tandis que le portage par les vecteurs se trouvent augmenté.

Tableau III : Evolution des indicateurs de peste murine dans la ville d'Antananarivo de 2002 à 2006

	2002**	2003**	2004**	2005**	2006**
Sp global (min-max selon quartier)	1,38 (0-2,4)	0,64 (0-3,27)	0,70 (0-2,12)	0,21 (0-6,66)	0 (0-2,7)
IC global (min-max selon quartier)	1,18 (0,80-1,93)	1,35 (0,19-2,03)	1,84 (0,008-3,50)	1,75 (0-3,47)	0,9 (0-0,27)
(%) lot de puces porteur <i>Y. pestis</i> (nb+/nb lots analysés)	0,0 (0/412)	0,0 (0/399)	0,23 (1/423)	0,0 (0/154)	1,8 (2/114)

Sp : Séroprévalence anti-F1

IC : Index cheopis

** capture des rongeurs par piège type BTS

Discussion et conclusion

La baisse de séroprévalence en anti F1 observée de 2002 à 2005 se confirme en 2006. Toutefois, cette dernière année, 2 souches de *Y. pestis* ont été isolées à partir de puces, ce qui témoigne de la circulation du bacille de la peste au sein de la population de rongeurs donc d'un risque permanent d'épidémie. Cette information argumente encore plus l'intérêt de maintenir la surveillance de la peste à Antananarivo. Des augmentations de séroprévalence, de portage de *Y. pestis* par les rats et les puces indiqueraient en effet que le risque de transmission de la peste à l'homme est accru. En 2006, bien qu'on ait observé une baisse par rapport à 2005, des cas suspects de peste étaient déclarés à Antananarivo ville (voir surveillance de la peste humaine).

Surveillance de la peste murine dans la ville de Mahajanga

La ville portuaire de Mahajanga était depuis 1998 incluse dans la surveillance régulière de la peste murine recommandée par le PNLN pour les mêmes objectifs que ceux de la ville d'Antananarivo. Ces surveillances régulières confiées au BMH et au SSPFD dans les différents quartiers de la ville ont été abandonnées depuis l'année 2005 faute de financement.

Lors des années très actives de peste (1991 à 1998), l'IPM avait mené des investigations dans 2 quartiers pilotes (Abattoir et Tsararano ambony) quant aux risques pesteux. Bien que plus aucun cas n'ait été confirmé à Mahajanga depuis 1999, une surveillance "en période calme" méritait d'être poursuivie afin de pouvoir déterminer les indicateurs de risque.

Aussi, dans le cadre de la continuité de ces activités, l'IPM a effectué des missions de capture de novembre 2005 jusqu'en novembre 2006 tous les trois mois : en périodes supposées pré-épidémique, épidémique, post-épidémique et inter-épidémique. Les indicateurs déterminés étaient la sérologie anti-F1 (anticorps spécifiques de la peste) des petits mammifères capturés, l'index

pulicidien, le portage en *Y. pestis* des petits mammifères et des puces (TDRA sur le broyât de rate des animaux et/ou culture) (tableau IV).

Tableau IV : **Captures et indicateurs de risque pesteux dans les deux quartiers de la ville de Mahajanga de novembre 2005 à novembre 2006**

	Abattoir	Tsararano Ambony
Nb de captures	212	191
Nb <i>R. norvegicus</i> (%)	108 (50,9)	20 (10,5)
Nb <i>R. rattus</i> (%)	0	23 (12,0)
Nb <i>S. murinus</i> (%)	80 (37,7)	102 (53,4)
Nb <i>M. musculus</i> (%)	24 (11,3)	46 (24,1)
SP moyenne (min-max)	2,4 (0-14,28)	5,8 (0-28,57)
IP moyen (min-max)	3,64 (0-11,55)	2,3 (0-7,36)
TDRA positif sur le broyât de rate (tous négatifs en bactériologie)	28	23
Bactériologie lots de puces	négatif	négatif

Un total de 403 animaux étaient capturés de novembre 2005 à novembre 2006. Dans le quartier d'Abattoir, sur les 212 captures, 108 étaient des *RN*, 24 étaient de *Mus musculus* (*MM*) et 80 étaient des *SM*. Dans le quartier de Tsararano Ambony, sur les 191 captures, 23 étaient des *RR*, 20 étaient des *RN*, 46 étaient des *MM*, et 102 étaient des *SM*. 61 étaient mis en élevage à l'animalerie.

La séroprévalence globale était de 2,4% (5/208) dans le quartier d'Abattoir et de 5,8% (11/187) dans le quartier de Tsararano Ambony. Huit animaux n'ont pu être testés en sérologie. Seules les rates ayant un TDRA positif étaient mises en culture. Respectivement 28 et 23 broyats de rate étaient positifs au TDRA dans les quartiers d'Abattoir et Tsararano ambony. Aucune souche de *Y. pestis* n'a été isolée à partir de ces rates. Les 97 lots de puces récoltées à partir d'animaux capturés dans les 2 sites (65 lots à Abattoir et 32 lots à Tsararano Ambony) et passés en bactériologie étaient négatifs. L'index pulicidien global était de 3,64% (772/212) dans le quartier d'Abattoir et de 2,3 % (444/181) dans le quartier de Tsararano Ambony.

Le port de Mahajanga est le seul foyer de peste situé en dehors des hautes terres à Madagascar. Dans la période très active de peste de 1991 à 1998, la musaraigne *S. murinus* dominait le peuplement en réservoirs (60 et 93% des captures). Par ailleurs, des individus étaient trouvés porteurs de *Y. pestis*. Il est apparu en 2006, période apparemment d'accalmie en terme de transmission humaine, que la répartition des petits mammifères dans les zones de suivi, la séroprévalence globale, l'index pulicidien global, le portage de bacilles ont sensiblement changé par rapport aux années actives de peste. Des animaux encore trouvés séropositifs témoignent toutefois la présence de la peste au sein de

la population animale. La peste ne semble donc pas avoir disparu de la ville.

Ces informations sont en faveur du fait que les données sur les petits mammifères réservoirs seraient de bons indicateurs du risque épidémique, d'où l'intérêt de poursuivre régulièrement ces surveillances.

• Peste murine dans les foyers ruraux

IPM : *S Rahelinirina, M Ranjalahy, J Ratovonjato, V Andrianaivoarimanana, C Raharimanana, L Rahalison*

Laboratoire Central de la Peste : *M Ratsimba, L Ralaftarisoa, N Randriananja, ML Ralimanantsoa*

Ministère de la Santé et du Planning Familial : *DRSPF - SSPFD Antsirabe II et Betafo*

Quatre-vingt à 90% des cas de peste à Madagascar ont toujours été déclarés dans des foyers ruraux. Les SSPFD d'Antsirabe II et de Betafo font partie de ceux qui en déclaraient régulièrement et en grand nombre. Les responsables ont notamment attiré notre attention sur le fait que malgré les ripostes mises en œuvre à chaque survenue de cas, certains foyers restaient toujours actifs. Cette information nous a incité à mener des investigations dans ces districts. Le but étant toujours de déterminer les indicateurs de risque d'apparition d'épidémie dans le cadre de la surveillance de la peste (voir surveillance peste murine dans les foyers urbains), notamment la sensibilité des puces aux insecticides. Pour cela, les puces des rats ont été récoltées et mises en élevage pour des tests insecticides.

Sites de piégeage

Entre septembre et décembre, des piégeages selon un protocole standard ont été effectués dans 15 ilots de la commune de Mangarano du SSD d'Antsirabe II et dans 10 ilots des communes d'Ambohimambola et Inanantonana du SSD de Betafo. Ces sites en question sont des foyers actifs de peste et des îlots limitrophes. Des îlots jamais touchés par la peste sont pris comme sites témoins.

Résultats

Tous les sites suivis indiquent une circulation encore bien active de *Y. pestis* au sein de la population de rats d'où un risque toujours présent de transmission à l'homme. Les puces collectées lors de ces missions étaient gardées pour les tests insecticides qui sont encore en cours, de ce fait, nous ne disposons pas de l'indicateur taux de portage du bacille par les puces qui s'avère pourtant être crucial pour une estimation de ce risque.

• Surveillance de la sensibilité des puces aux insecticides

Unité d'Entomologie : *E Tata, L Andrianaivolambo, J Ratovonjato*

Collaboration : *Laboratoire Central de la Peste*

Collecte de puces

En 2006, dans le cadre de la surveillance de la sensibilité aux insecticides des puces potentiellement vectrices de Peste à Madagascar, l'Unité d'Entomologie a réalisé quatre missions de terrain ayant pour objectif de collecter des puces de micromammifères dans huit localités se trouvant dans quatre districts foyers de Peste sur les Hautes Terres Centrales.

Au total 568 puces adultes ont pu être collectées et mises en élevage en insectarium afin d'obtenir un nombre suffisant de puces pour réaliser les tests de sensibilité aux insecticides.

Outre ces missions réalisées essentiellement pour collecter des puces, d'autres échantillons de puces collectés lors des missions de terrain réalisées par le Laboratoire Central de Peste dans le cadre de la surveillance de la peste murine dans les quartiers d'Isotry (Antananarivo), Abattoir et Tsararano (Mahajanga), dans les communes d'Inanantonana et Ambohimambola (Betafo) ainsi que des puces collectées à Ambohipananina (Ambatondrazaka) et Alatsinainikely (Miarinarivo) en 2005 par la même équipe ont également pu être testés après élevage en insectarium.

Tests de sensibilité aux insecticides

Les tests ont été réalisés selon la méthodologie recommandée par l'OMS.

Du fait de l'apparition progressive de l'inefficacité des insecticides actuellement utilisés dans le cadre du Programme National de Lutte vis-à-vis de *Xenopsylla cheopis*, l'année 2006 a été marquée par le début la recherche des insecticides alternatifs à ceux actuellement utilisés dans le cadre du même programme. Cinq insecticides appartenant à quatre familles : fénitrothion 5,00%, malathion 1,00% (organophosphorés), deltaméthrine 0,05% (pyréthrine), propoxur 1,00% (carbamate) et DDT 4% (organochloré) ont été testés. Le fénitrothion 5,00%, malathion 1,00%, sont des insecticides récemment testés pour détecter une éventuelle réversion de leur inefficacité observée vers la fin des années 1970.

Résultats

Dans la ville de Mahajanga, *X. cheopis* était résistante aux quatre insecticides (deltaméthrine 0,05%, propoxur 0,1%, malathion 5,00%, fénitrothion 1,00%) testés en 2006.

Dans la ville d'Antananarivo, les *X. cheopis* collectées en 2006 étaient résistantes à la deltaméthrine 0,05%, et malathion 5,00%.

Dans deux foyers ruraux de peste dans le district de Miarinarivo (Alatsinainikely et Miadamanjaka), la deltaméthrine et le fénitrothion étaient efficaces contre *X. cheopis*. Par contre le malathion a montré une baisse d'efficacité vis-à-vis de cette espèce de puce.

A Sahatany, un foyer rural de peste dans le district d'Antsirabe II, *X. cheopis* était résistante au propoxur et tolérante à la deltaméthrine. Les tests sur les puces de Betafo sont en cours.

1.3 Activités internationales du Centre Collaborateur OMS Peste

1.3.1 Appui à la RDC

IPM : *Unité Peste*

OMS Genève : *E Bertherat*

RDC : *JC Shako*

NHLS : *L Arntzen*

Malteser International : *D Rakotoarison, A Kinzelbach*

Objectif

Effectuer le diagnostic biologique de confirmation de la peste sur les prélèvements de cas suspects de peste de RDC lors de deux épidémies particulières de peste pulmonaire : de mai à juillet à Linga, au nord de Bunia dans l'Ituri et de août à novembre dans le Haut-Uélé, Province Orientale (*référence : rapports d'investigation équipes Ministère Santé RDC et OMS RDC/Afro/Genève*), et soutenir en TDRA.

Matériel et méthodes

- *Collectes et expédition des échantillons cliniques*

Les collectes ont été effectuées par : (i) des équipes mixtes locales (Ministère Santé/Université/OMS) et/ou (ii) des équipes d'ONG oeuvrant sans le pays tels MEDAIR, MSF et/ou (iii) une équipe mixte OMS/Ministère de la santé congolais en mission d'évaluation sur le terrain sur des malades suspects de peste, selon les critères de définition des cas.

- *Nombre de patients et prélèvements reçus à l'IPM*

Un total de 283 prélèvements (ponction de bubon et/ou crachat et/ou écouvillonnage de pharynx, et/ou sang total) provenant de 162 patients sont parvenus à l'IPM. Pour 3 patients, la paire de sérums était disponible, les prélèvements sanguins ont été effectués à au moins 8 jours d'intervalles.

- *Analyses au Laboratoire Peste de l'IPM*

Diagnostic biologique de la peste par les méthodes standards.

Résultats

Bactériologie

Sur les 162 cas suspects de peste, 6 étaient confirmés par la bactériologie (isolement de *Y. pestis* à partir du crachat et/ou de l'écouvillonnage du pharynx, également positifs en bandelette).

Ces 6 cas confirmés ont été prélevés respectivement les 18 septembre (2 malades), 30 octobre (1 malade), 6 novembre (2 malades) et le 16 novembre (1 malade).

Les souches isolées étaient toutes sensibles aux antibiotiques recommandés pour le traitement de la peste.

Bandelette

Sur les 162 cas suspects de peste, 33 avaient des crachats ou écouvillonnage de pharynx positifs au test rapide sur bandelette de détection d'antigène F1 dont 25 faiblement positifs et 8 fortement positifs. Pour 129 patients, les prélèvements étaient négatifs à ce test.

Sérologie

Deux patients ont eu une sérologie positive. Il s'agissait d'un cas venant de Makapele, malade depuis 23 septembre et prélevé le 6 octobre et d'un cas venant d'Angoko 3, malade depuis le 3 novembre et prélevé le 6 novembre. Les sérums tardifs de ces patients n'étaient pas disponibles.

Les 3 patients pour lesquels la paire de sérum était disponible avaient tous une sérologie négative.

1.3.2 Réunion inter-régionale sur la prévention et le contrôle de la peste

IPM : Unités Peste, Epidémiologie, Entomologie

OMS Genève : Bertherat E

La dernière réunion des Centres Collaborateurs OMS Peste s'est tenue à Atlanta, USA, en juillet 2000. Depuis, plusieurs avancées, notamment en matière de diagnostic, justifiaient une remise à jour des recommandations de l'OMS sur la prévention et le contrôle de la peste.

Sous l'égide d'OMS Genève, l'Unités Peste a co-organisé avec eux la tenue de cette réunion à Madagascar (programme, participants, logistique). 54 participants provenant de 23 pays étaient présents. Le programme qui s'est étalé sur 5 jours s'est articulé en une série de 40 exposés suivis de discussions dans les thèmes : Epidémiologie, Clinique, Contrôle et Prévention, Laboratoire, Réservoirs et vecteurs, Risque épidémique en milieu urbain, une visite d'une journée dans un foyer de peste, un atelier sur l'utilisation des tests rapides peste et des tables rondes d'experts.

Cette réunion a abouti à un document de l'OMS sur la mise à jour des recommandations en matière de prévention et contrôle de la peste à l'attention des pays.

Six communications sur Madagascar ont été présentées.

1.4 Programme d'évaluation d'assurance qualité

L'Unité Peste a participé dans un programme d'évaluation d'assurance qualité, mis en place par l'OMS avec le NHLS Afrique du Sud à l'attention des laboratoires africains qui font le diagnostic de la peste. Nous avons fourni d'une part de l'antigène F1 ainsi que des bandelettes peste au NHLS, d'autre part, nous avons reçu 6 échantillons à analyser.



2- Laboratoire National de Référence OMS pour la Poliomyélite

M Rakoto Andrianarivelo, S Rabemanantsoa, NS Andriamamonjy, JA Andriamanivosoa

Le laboratoire pour la poliomyélite de l'IPM est un Centre de Référence Inter-Pays qui assure le diagnostic d'infection à poliovirus des cas de paralysies flasques aiguës (PFA) en provenance de Maurice, Seychelles, Comores et Madagascar.

En 2006, le laboratoire a analysé 383 échantillons de selles issus de 192 cas de PFA : Comores 7 cas (14 selles), Madagascar 176 cas (351 selles), et Maurice 9 cas (18 selles). Aux Comores, aucun cas n'a été trouvé positif. A Maurice, un cas de PFA récemment vacciné a excrété un poliovirus de type 3. A Madagascar, 2 cas de PFA étaient positifs pour le poliovirus de type 2. Les techniques RT-PCR-RFLP appliquées à ces isolats ont montré qu'il s'agit de poliovirus vaccinal. Les isolats envoyés dans le Laboratoire Régional en Afrique du Sud (NICD, Johannesburg) ont confirmé nos résultats.

Le tableau I montre l'évolution des critères de performance de la surveillance et du laboratoire à Madagascar ces 3 dernières années. Le seuil de détection des cas de PFA dépasse le niveau requis et est similaire à celui de 2005. 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. Par ailleurs, les cas détectés ne sont pas représentatifs de tout le territoire car seuls 71 districts (64%) ont signalé au moins un cas (figure 1).

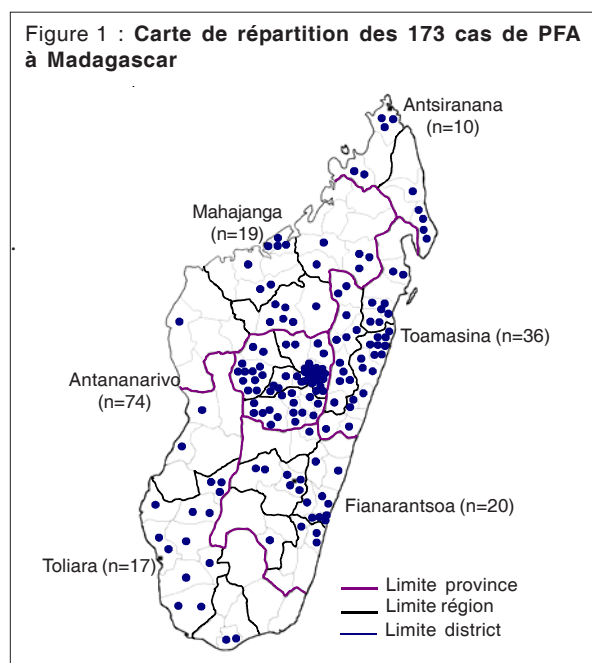
Afin de réduire le délai d'isolement de poliovirus dans les échantillons cliniques, un nouvel algorithme (délai de résultat 14 jours) se substituera à l'actuelle procédure (délai de résultat 28 jours) à partir de février 2007. Ce nouvel algorithme préconise de n'identifier que les virus isolés sur cellules L20B (cellules murines exprimant le récepteur spécifique du poliovirus CD155) mais après avoir augmenté le titre viral par un passage sur

cellules RD (lignées continues de rhabdomyosarcome humain sensibles à tous les entérovirus). Par ailleurs, la technique de typage par séroneutralisation (délai de résultat 7 jours) sera supprimée et les virus isolés seront directement analysés par les 2 méthodes de différenciation intratypique (PCR et ELISA) qui permettent de définir le sérotype et l'origine vaccinale, dérivée du vaccin (VDPV) ou sauvage du poliovirus. Au final, le délai de résultat jusqu'à la différenciation intratypique du poliovirus sera ramené de 42 jours à 21 jours.

Tableau 1 : Critères de performance du laboratoire et de la surveillance des PFA à Madagascar (2004-2006)

Critères	Performance 2004	2005	2006	attendue
Nbre de cas de PFA	82 en 2006	117	173	176
Nbre d'échantillons analysés	160 (80x2)	233	352	351
Echantillons adéquats	≥ 90%	86%	87%	93%
Réception au labo ≤ 3 j	≥ 90%	71%	63%	60%
Bonnes conditions	≥ 90%	98%	97%	94%
Rendu des résultats ≤ 28 j	≥ 90%	100%	100%	100%
Entérovirus non polio isolés	≥ 10%	17%	8%	10%
Poliovirus isolés	-	0	16*	2*
Envoi des souches de poliovirus ≤ 7 j vers le labo régional	≥ 90%	-	100%	100%
Résultat "Proficiency test"	≥ 90%	100%	95%	100%

* Les 2 souches de poliovirus ont été isolées à partir de 2 cas de PFA du district d'Ankazoabo (Toliara) et d'Ikalamavony (Fianarantsoa). Il s'agit de poliovirus vaccinal Sabin 2.



Dans le cadre de la mise en place de ce nouvel algorithme, le laboratoire national a suivi une formation aux 2 techniques de différenciation intratypique en novembre en Ouganda.



3- Laboratoire National de Référence OMS pour la Rougeole

M Rakoto Andrianarivelo, JA Andriamananosoa

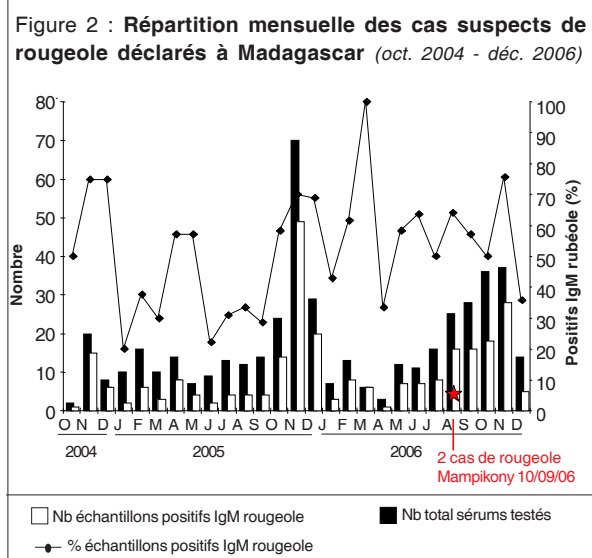
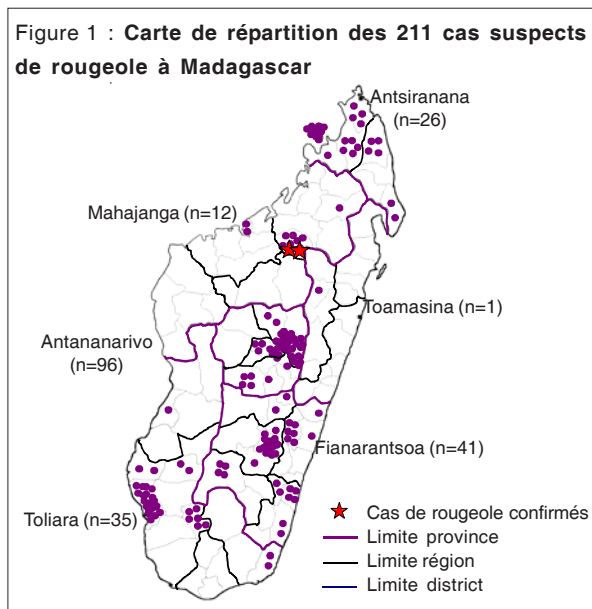
La surveillance nationale des cas suspects de rougeole a démarré après les campagnes de vaccination de masse organisées en septembre-octobre 2004. En 2006, le laboratoire a reçu 211 échantillons de sérums, soit une réduction de 7,4% par comparaison à 2005. L'âge moyen des enfants était de 7,1 ans (Ecart type 6,2 ans) et le sex-ratio de 1,1. Seul le tiers des cas suspects (67/211) avait une histoire de vaccination contre la rougeole. Les sérums ont été testés par technique ELISA indirect à la recherche d'IgM spécifiques de la rougeole et de la rubéole (réactifs Dade Behring). Les sérums identifiés négatifs pour la rougeole sont testés en IgM rubéole.

Le tableau montre les critères de performance du laboratoire et de la surveillance. Deux cent sept (207) échantillons sont négatifs pour la rougeole : 52 collectés dans les 3 premiers jours post-éruption, 149 entre 4 et 28 jours, et pour 6 cas les dates de prélèvement manquent. Il existe un risque d'obtenir des résultats faussement négatifs pour la rougeole dans 30% des cas prélevés avant le 3^{ème} jour. Parmi les 52 sérums précoces, 26 (50%) sont positifs en IgM anti-rubéole, 23 (44,2%) sont négatifs, et 3 (5,8%) ont une valeur indéterminée ("douteux") sans qu'un sérum tardif ait pu être obtenu pour les contrôler. Deux échantillons douteux pour la rougeole ont été identifiés. Ces échantillons ont été prélevés aux 5^{ème} et 7^{ème} jour post-éruption et ont été testés positifs pour la rubéole.

Tableau 1 : Critères de performance du laboratoire et de la surveillance des cas suspects de rougeole à Madagascar (2006)

Critères	Performance attendue	2006
Nbre cas suspects de rougeole déclarés et prélevés	358 cas attendus (2/100 000 hab)	211 cas observés (1,7/100 000 hab)
Echantillons adéquats (collecte ≤ 28 j suivant début de l'éruption)	> 80%	97%
Réception au labo ≤ 3j	> 80%	58%
Rendu des résultats ≤ 7j	> 80%	100%
Bonnes conditions des échantillons	> 80%	97%
Résultats IgM rougeole :		
- Positif	< 10%	2 (0,9%)
- Négatif	-	207 (98,1%)
- Douteux	-	2 (0,9%)
Résultats IgM rubéole :		
- Positif	-	124 (58,8%)
- Négatif	-	81 (38,4%)
- Douteux	-	6 (2,8%)
Résultat "Proficiency test" 2006	> 80%	95%

Deux cas confirmés de rougeole ont été diagnostiqués en septembre dans le district de Mampikony, province de Mahajanga (figure 1). Le premier cas âgé de 6 ans, et le second cas d'âge non précisé, n'étaient pas vaccinés contre la rougeole. Les échantillons de sérums ont été prélevés entre le 7^{ème} et le 8^{ème} jour post-éruption. Dans le même district, 5 cas suspects ont été rapportés en 2005, et 7 autres en 2006. Parmi ces 12 cas, tous sont négatifs pour la rougeole, et 9 (75%) sont positifs pour la rubéole. Il s'agit des premiers confirmés de rougeole rapportés à Madagascar depuis les campagnes de vaccination de 2004. Ces nouveaux cas impliquent de renforcer les stratégies de lutte contre la rougeole par : (a) l'amélioration de la surveillance (augmentation du taux de détection, extension de la surveillance à tous les districts, investigation d'épidémies); (b) l'augmentation de la couverture vaccinale de routine; (c) l'organisation de campagnes de vaccination de suivi.



4- Laboratoire National de Référence OMS pour la Grippe

JM Reynes, GM Razafitrimo, Andriamandimby SF

En 2006, la surveillance de la grippe est restée centrée sur le système sentinelle mis en place depuis plusieurs années sur Antananarivo. Cette surveillance est entièrement supportée financièrement par l'IPM à l'exception du kit de réactifs permettant l'identification des virus fourni par l'OMS et de l'envoi de souches aux Centre Collaborateur OMS à Londres. Le laboratoire de l'IPM est reconnu par l'OMS depuis 1978. Cette surveillance a pour objectif de détecter précocement des variants viraux susceptibles d'être à l'origine d'une épidémie voire d'une pandémie, de contribuer aux choix des souches pour la composition mondiale du vaccin anti-grippal, et d'entretenir à Madagascar un savoir-faire en matière d'isolement de virus grippal utile au niveau national dans la cadre d'investigation par les équipes du Ministère de la Santé et du Planning Familial d'épidémies de syndrome respiratoire.

Cette surveillance sentinelle repose sur un système à deux composantes :

- une surveillance virologique avec identification des souches circulantes dans cinq centres sentinelles bénévoles d'Antananarivo à partir de prélèvements naso-pharyngés effectués chez les patients présentant une fièvre d'apparition brutale évoluant depuis moins de cinq jours avec toux. Chaque prélèvement est placé dans un cryotube contenant du milieu de transport viral puis conservé à +4°C dans les centres. Ces cryotubes sont récoltés deux fois par semaine par l'IPM afin de tenter d'isoler des virus grippaux à partir des prélèvements. Des prélèvements peuvent être reçus également dans le cadre de diagnostic individuel. Les tentatives d'isolement se font sur cellules de rein de chien Madin-Darby (MDCK) selon la technique OMS (WHO/CDS/CSR/NCS/2002.5 Rev.1). Les résultats individuels sont communiqués une fois par semaine aux médecins participant au réseau et un bilan synthétique hebdomadaire est communiqué au Ministère de la Santé et sur le site Web Flunet de l'OMS. Les isolats viraux obtenus sont envoyés au moins deux fois par an au Centre collaborateur OMS à Londres pour une

caractérisation plus fine des sous-types isolés dans notre laboratoire. Celle-ci permet de suivre la dérive génétique et antigénique des souches circulantes en vue d'adapter le choix des souches composant le vaccin anti-grippal.

- une surveillance syndromique (indicateur épidémique) qui consiste en un relevé hebdomadaire de la fréquence des syndromes grippaux parmi les consultants du centre de santé de l'OSTIE à Antananarivo. Ce centre reçoit par semaine plusieurs milliers de consultants issus de l'agglomération d'Antananarivo et permet d'avoir une indication sur l'activité épidémique des syndromes grippaux. L'activité grippale est considérée comme épidémique quand la fréquence des syndromes grippaux parmi les consultants du centre de santé de l'OSTIE à Antananarivo dépasse les 20%.

• Résultats

Le volume d'activité du laboratoire a été maintenu par rapport à l'an dernier et reste élevé, en matière de recueil de prélèvements de cas suspects (tableau). Le nombre de souches isolées est plus important. Ceci est probablement dû à l'épidémie qui a sévi en octobre à Antananarivo. Un des centres a très peu de confirmation de cas alors que les patients présentent les critères d'inclusion et que les prélèvements semblent bien conservés. Il reste à vérifier que les prélèvements sont bien faits avant de chercher une autre explication.

L'an dernier, deux pics de syndromes grippaux ont été signalés (le premier entre la mi-juin et la mi-juillet suivi d'une période jusqu'à fin août, soit de la semaine 24 à 34 pendant l'hiver austral et le second pendant le mois de décembre, soit de la semaine 48 à 52 pendant l'été austral). Cette année, le seuil épidémique a été dépassé à trois reprises. Il y a eu la continuité de l'épidémie observée fin 2005 et ce jusqu'à la semaine 8 (fin février) puis un pic isolé en avril (semaine 17) et enfin une épidémie en octobre (semaine 40 à 43) (figure).

Tableau I : Volume d'activités du laboratoire national de référence OMS pour la grippe

Centres sentinelles	Cas suspects (%)	Cas confirmés (%)	% d'isolats
Disp. Alasora	223 (33)	92 (41)	41
Disp. Anosivavaka	105 (15)	9 (9)	4
Disp Ilanivato	185 (27)	63 (34)*	28
Disp. Manjkaray	138 (20)	42 (30)	18,5
CMS Isoraka	31 (5)	17 (55)	7,5
IPM	3 (0)	2 (67)	1
Total	685 (100)	225 (33)	100

* un patient avec deux prélèvements positifs

Le premier pic a été causé par le virus H1N1 (continuité de l'épidémie de fin 2005) qui a été relayé par le virus H3N2. Le pic isolé en avril n'est pas expliqué. Par contre, une nouvelle épidémie grippale est bien survenue en octobre et elle était causée par le virus H3N2. Le virus de type B qui est détecté habituellement de manière sporadique tout au long de l'année, n'a été détecté qu'à la fin de l'année. Nous avons également détecté des co-infections H1N1 et H3N2. Au total, 226 isolats ont été obtenus : 158 H3N2, 55 H1, 2 co-infections H1-H3, 10 B Malaysia et 1 isolat non encore identifié.

L'épidémie observée à Antananarivo et due au virus H3N2 a été ensuite observée à Toamasina dans le cadre de la surveillance sentinelle des arboviroses. Le seuil de 20% de syndromes fébriles par rapport à l'ensemble des consultants a été franchi de la semaine 42 à la semaine 47 (mi-octobre à fin novembre). Une dizaine de prélèvements pharyngés (10 patients) a été analysée et 8 souches de virus H3N2 ont été isolées.

Deux envois concernant 85 souches ont été organisés sous carboglace vers le Centre Collaborateur OMS de Londres (National Institute for Medical Research) en novembre et décembre 2005. Soixante et onze souches ont pu être réisolées et caractérisées. Par contre, l'identification de 5 isolats de sous-type H3 n'a pas été confirmée : il s'agissait de 2 isolats de sous-type H1 et pour 3 isolats d'un mélange des sous-types H1 et H3.

- Les souches malgaches H1 (n = 35) étaient antigéniquement très proches de la souche vaccinale recommandée A/New Caledonia/20/99 ou des souches récentes de référence comme A/Egypt/39/05 ou A/Hong Kong/2652/06.

- Les souches malgaches H3 (n = 34) étaient antigéniquement proches de la souche vaccinale recommandée A/Wis/67/05 ou des souches de référence obtenues sur cellules MDCK A/HK/4443/05. Les isolats obtenus de Toamasina étant antigéniquement identiques à ceux obtenus d'Antananarivo.

- Les souches malgaches de type B/Victoria (n = 2) étaient antigéniquement plus proches de la souche vaccinale recommandée B/Malaysia/2506/04. Il n'y pas eu cette année de souches de type B/Yamagata.

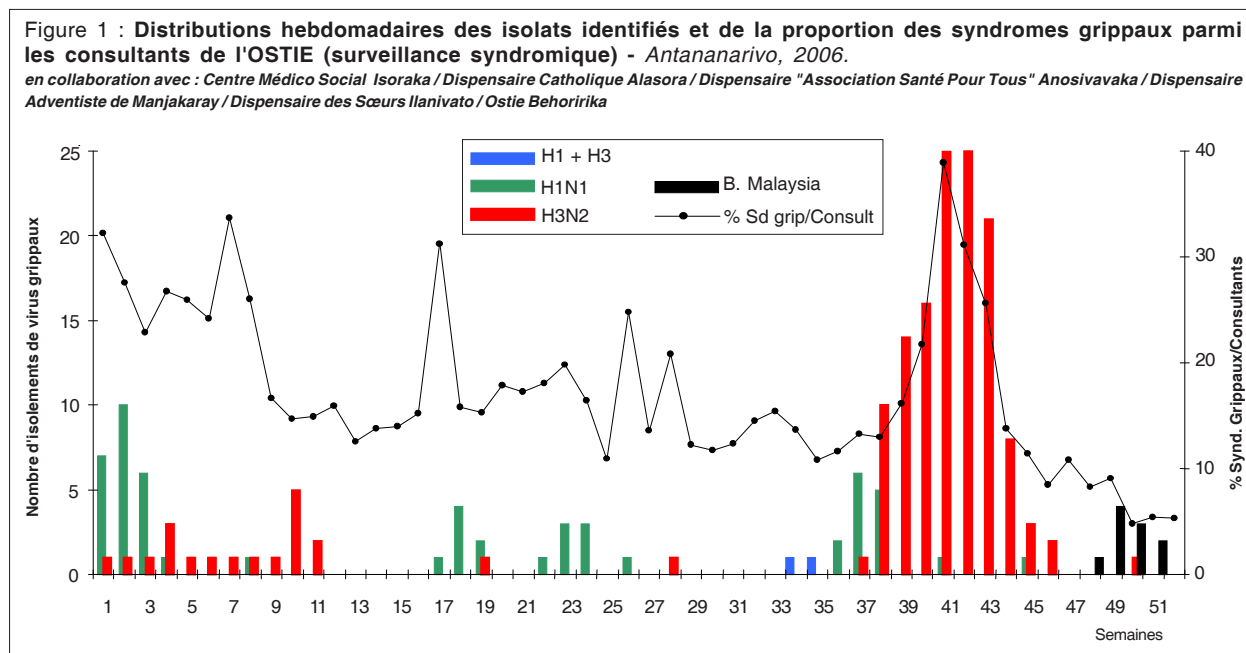
En conséquence, le profil de réactivité des souches malgaches était semblable à celui des souches récemment isolées en Europe ou dans d'autres pays du monde.

• Conclusion

L'activité grippale a été du même type que les autres années avec deux pics saisonniers (hiver et été austral)

qui d'une année à l'autre peuvent être décentrés. Nous retiendrons la forte épidémie due au virus H3N2 en octobre à Antananarivo qui est ensuite retrouvée le mois suivant à Toamasina. La mise en place de sites sentinelles dans d'autres villes du pays dans le cadre de la surveillance des arboviroses permettra également de surveiller les syndromes grippaux et de lancer des alertes en cas de franchissement de seuil épidémique. Les souches isolées sont restées très proches des souches recommandées pour la composition du vaccin.

Dans le cadre de la réponse à une potentielle pandémie de grippe aviaire due au sous-type H5N1, le laboratoire a été nommé en mars 2006 par l'OMS comme un des laboratoires de référence régionaux de la zone Afro pour la surveillance et la réponse à la grippe aviaire. A ce titre, le laboratoire dispose de techniques moléculaires permettant une détection rapide de H5N1 et doit participer en 2007 à un contrôle de qualité organisé par l'OMS pour valider les performances des techniques mises en place.



5- Laboratoire National de Référence des Mycobactéries (CNRM)

IPM : *H Ramarokoto, T Rasolonavalona, V Rasolofo*
 PNT : *B Rarivison, O Ratsirahonana, A Rakotoarisaonina*

5.1 Activités de diagnostic et de supervision du CNRM

Le Centre national de Référence des Mycobactéries (CNRM) comprend le laboratoire des mycobactéries de l'Institut d'Hygiène Sociale (IHS) et le laboratoire des mycobactéries de l'IPM.

Le laboratoire des mycobactéries à l'IPM réalise les analyses pour le diagnostic de la tuberculose pour le Centre de Biologie Clinique de l'IPM, le PNT (CNRM en enquêtes) et les activités de recherche.

En 2006, 3 796 prélèvements ont été traités, 1 761 du CBC (46,4%), 1 803 des enquêtes (47,5%), 232 du Programme National Tuberculose (PNT) 6,1%.

Le nombre des prélèvements a augmenté de 9% par rapport à l'année 2005, principalement à cause des enquêtes. 96% de ces prélèvements sont d'origine pulmonaire et 4% extra-pulmonaire.

Sur 3 645 prélèvements d'origine pulmonaire, 1 611 (44,2%) ont été positifs à l'examen direct; en revanche, sur 151 prélèvements d'origine extra-pulmonaire, seul 1 prélèvement de pus a été positif à l'examen direct et en culture.

Sur 2 390 prélèvements d'origine pulmonaire qui ont fait l'objet d'une demande de culture, 1 282 étaient positifs, 844 négatifs et 264 en cours. Le taux de concordance entre l'examen direct et la culture a été de 77,8%, inférieur à celui de 2005 (93,8%).

193 prélèvements positifs en microscopie ont été négatifs en culture. Ces malades sont répartis ainsi : 78 cas de malades au 2^{ème} mois, 1 de 3^{ème} mois, 5 de 5^{ème} mois, 95 nouveaux cas dont la majeure partie est constituée par les prélèvements de l'enquête Résistance, 6 cas de rechute, 2 de reprise, 5 cas inconnus. La négativité des nouveaux cas de l'enquête Résistance s'explique par le fait du délai d'acheminement trop long des prélèvements, pouvant aller jusqu'à 80 jours pour certains centres.

51 prélèvements négatifs en microscopie (7,2%) ont été positifs en culture. Ce qui confirme la sensibilité

plus grande de la culture dans les formes de tuberculose pulmonaire à microscopie négative ou TPM(-).

Parmi les 878 souches identifiées en 2006, 877 sont des *M. tuberculosis* et une mycobactérie atypique.

Les antibiogrammes sont demandés surtout pour les cas récurrents, et ont leur intérêt dans la surveillance épidémiologique de la résistance aux antituberculeux.

A cause de l'enquête nationale sur la résistance, le nombre des antibiogrammes a augmenté en 2006. Les antibiogrammes ont été demandés pour les 6 groupes suivants : clients CBC (hors enquête), CNRM, Enquête Résistance, Vacsis, Groupe APA, Groupe M2.

La sensibilité de *M. tuberculosis* a été testée aux antibiotiques suivants : Isoniazide, Ethambutol, Streptomycine, Rifampicine, P.A.S selon la méthode indirecte des proportions de Canetti, Rist et Grosset. Le contrôle de qualité interne est effectué régulièrement (utilisation de souches de contrôle, témoins positif et négatif avec chaque lot de milieu).

Au total, 668 antibiogrammes ont été effectués en 2006, dont 651 résultats disponibles.

Onze souches multirésistantes (MDR), résistantes à la fois à la Rifampicine et à l'Isoniazide ont été observées, dont 6 cas de rechute, 2 échecs et 3 nouveaux cas. Les nouveaux cas ont été plus fréquemment résistants à H qu'à S.

5.2 Contrôle de qualité des lames

Le contrôle de qualité entre les 2 laboratoires centraux (IPM et STL/IHS) a montré les résultats suivants: sur un total de 180 lames examinées, 3 faux positifs faibles et 3 faux négatifs faibles ont été trouvés. La concordance qualitative a été satisfaisante à 96,6%.

• Enquête Nationale sur la résistance aux antituberculeux

Coordination : *PNT (Division Tuberculose/Ministère de la santé et du Planning Familial), Dr Benjamin Rarivoson et CNRM, Institut Pasteur de Madagascar*
Collaborations extérieures : *Laboratoire Supranational de Référence des Mycobactéries, Afrique du Sud*

Madagascar ne disposait en 2005 d'aucune donnée nationale de prévalence de la résistance aux antituberculeux. Les délais écoulés depuis les enquêtes précédentes (1999-2000), leur caractère limité dans l'espace, l'importance de ces données pour le PNT ont justifié l'intérêt capital de la mise en œuvre de l'actuelle enquête nationale sur la résistance aux antituberculeux.

Les objectifs de cette enquête sont de définir à un niveau national le taux de prévalence et les caractéristiques de la résistance primaire aux 4 antibiotiques majeurs (isoniazide, rifampicine,

streptomycine, éthambutol) et d'estimer le taux de prévalence des résistances acquises aux mêmes antituberculeux.

Méthodologie

35 grappes de 30 patients, soit 1 050 patients doivent être inclus dans l'étude parmi les nouveaux patients tuberculeux pulmonaires à microscopie positive (TPM+) dans les CDT.

A l'IPM, l'examen microscopique est confirmé, la culture réalisée sur milieu de Löwenstein-Jensen. L'antibiogramme est réalisé sur une souche par patient.

Toutes les souches résistantes et 10% des souches sensibles seront adressées à un Laboratoire Supranational de Référence des Mycobactéries pour le contrôle de qualité des antibiogrammes.

Résultats

Le recrutement des patients a commencé le 03 octobre 2005. Au 31 décembre 2006, 1 144 nouveaux patients TPM+ ont été recrutés, dont 1 050 cultures positives. Parmi ces positives, 506 souches ont été testées, avec des résultats disponibles, soit 48,2% des résultats.

Pour les cas préalablement traités, 85 ont été recrutés dont 33 testés, avec des résultats disponibles.

La résistance primaire globale a été de 7% et la résistance secondaire de 21%.

La multirésistance primaire à HR a été de 0,4% et la multirésistance secondaire a été de 6% et concernait 2 cas de rechute.

6- Laboratoire National de Référence pour la Rage

JM Reynes, GM Razafitrimo, R Rakoto Rakotomalala

La rage à Madagascar est endémique et essentiellement de type canin. Le diagnostic de la rage est effectué dans l'Unité de Virologie de l'IPM par détection de la nucléocapside du virus rabique sur un prélèvement frais de corne d'Ammon et de bulbe de cerveau d'animaux suspects de rage, grâce à un anticorps spécifique couplé à la fluorescéine (conjugué antinucléocapside lyophilisé et adsorbé, Bio-Rad, Marne la Coquette, France). Pour les cas trouvés négatifs par cette technique, une technique supplémentaire est utilisée : l'inoculation intracrânienne de broyat de cerveau suspect à une portée de souris nouveaux-nés et une surveillance de la portée pendant 21 jours. Un animal est sacrifié tous les deux jours à partir du 5^{ème} jour post-inoculation et un diagnostic par immunofluorescence est alors effectué sur les cerveaux des animaux sacrifiés.

Cette surveillance passive est entièrement supportée financièrement par l'IPM. Il n'existe pas encore à Madagascar de plan national de lutte contre la rage.

Le laboratoire a reçu 96 prélèvements. Il s'agissait des cerveaux (ou têtes) de 77 chiens, 9 chats, 9 bovins et 1 porc. Ils provenaient de 4 provinces : Mahajanga (3 bovins, 1 porc et 2 chiens), Toamasina (3 bovins et 5 chiens), Toliara (1 chien), et Antananarivo (le reste des animaux). Le volume de cette activité de surveillance est du même ordre que celui réalisé l'an dernier. Cette activité reste encore très marginalisée et centrée sur Antananarivo faute de mise en place d'une surveillance nationale dans le cadre d'un programme de lutte contre la rage à Madagascar. Nous avons pu cependant trouver au cours de ces deux dernières années des animaux enrégés dans 5 des 6 provinces de Madagascar (nous n'avons pas eu de prélèvements de la province d'Antsiranana).

Les résultats ont été interprétables pour tous les animaux sauf un chien (le cerveau de cet animal était putréfié). Huit des neuf bovins ont été trouvés positifs (dans les districts d'Ankazobe et de Faratsiho pour la province d'Antananarivo, de Maevatanana pour la province de Mahajanga, d'Ambatondrazaka, d'Amparafaravola, et de Moramanga pour la province de Toamasina). Trois des 9 chats de la province d'Antananarivo étaient positifs (2 d'Antananarivo ville, 1 de Betafo). Le porc de Maevatanana était positif. Trente-sept chiens ont été trouvés positifs sur les 76 avec un résultat valide (47% de positifs). Ce pourcentage de positifs est en diminution de 30% par rapport aux années précédentes. Nous n'avons pas d'explication.

Le tableau présente les résultats d'examen pour les 76 chiens avec résultat valide en fonction de leur district d'origine. Nous retiendrons la circulation de la rage dans des zones à forte densité de population.

Tableau I : Résultats de diagnostic de laboratoire de la rage pour les chiens suspects

Code postal et districts	Résultats		Total
	Négatif	Positif	
101 Antananarivo	18	16	34
102 Antananarivo-Atsimondrano	2	5	7
103 Antananarivo-Avaradrano	6	2	8
104 Ambatolampy	1	2	3
105 Ambohidratrimo	4	3	7
106 Andramasina	0	1	1
108 Ankazobe	0	1	1
110 Antsirabe I	2	0	2
112 Arivonimano	2	2	4
113 Betafo	1	0	1
412 Maeavatanana	0	1	1
421 Tsaratanana	1	0	1
514 Moramanga	2	3	5
601 Ambatondrazaka	0	1	1
Total	39	37	76

7- Laboratoire Central de la Bilharziose

VE Ravaoalimalala, P Ravoniarimbinina, A Rafamantamantsoa, G Razafitsialonina, S Rafalimanantsoa, J Randriambeloso, JL Soares

Le Laboratoire Central de la Bilharziose a pour principales missions de contribuer à la mise en œuvre du programme national dans le domaine de la formation des personnels, de la diffusion de l'information et de la supervision des activités. Il collabore aussi avec les autres partenaires au développement sanitaire à travers la promotion et la mise en œuvre de la recherche opérationnelle.

7.1 Mise en œuvre du Programme National de Lutte contre la Bilharziose

Pour l'année 2006, le financement du Second Projet d'Appui au Secteur Santé de la Banque Mondiale a permis la réalisation de supervision formative dans onze (11) districts sanitaires endémiques en bilharziose et l'acquisition d'une quantité très limitée de médicaments pour le traitement de masse des populations des villages hyperendémiques pour dix-neufs (19) districts sanitaires sur les 71 qui devraient continuer le programme.

• Supervisions formatives

Onze (11) districts sanitaires ont bénéficié de supervision formative : Ambilobe, Ambanja, Maevatanana, Kandrehô, Tsaratanana, Antsohihy, Port-Bergé, Mampikony, Vavatenina, Fénériver Est, Mananjary et Ifanadiana.

Des problèmes ont été évoqués :

- l'irrégularité ou l'absence de financement
- la procédure pour l'achat des médicaments.

Les solutions proposées ont été :

- la planification et la réalisation des activités de lutte contre la bilharziose avec le Budget CRESAN
- commande de médicaments du programme à l'agence SALAMA en plus de celle du FANOME.

• Activités des districts formés

Les districts sanitaires des provinces d'Antananarivo, de Mahajanga, de Toamasina, d'Antsiranana, de Toliara et de Fianarantsoa ont réalisé 76 enquêtes permettant d'identifier 52 villages hyperendémiques dont 11 à *Schistosoma haematobium* et 41 à *Schistosoma mansoni*.

Cette année, 18 497 personnes ont été ciblées par le traitement de masse avec un taux de participation de 81,43 %.

• Commentaires

De nombreux problèmes ont été soulevés pour le programme national de lutte contre la bilharziose dont la mise en place aurait dû être terminée en 2005 : irrégularité et insuffisance de financement, affectation des membres des équipes d'intervention déjà formés pour le programme.

Tant que les responsables sanitaires ne sont pas convaincus que la bilharziose est un problème de santé publique dans leur secteur, ce programme national est voué à l'échec.

Pourtant le défi du Ministère de la Santé et du Planning Familial est : "l'accès de tous, plus particulièrement la couche la plus démunie et le milieu rural, aux prestations de soins de qualité, aux programmes de prévention et de promotion de santé".

Selon l'engagement du Ministère de la Santé et du Planning Familial au Madagascar Action Plan (MAP), pour aider les groupes les plus vulnérables à s'intégrer à la croissance économique et à la réduction de la pauvreté, le programme national de lutte contre la bilharziose est parmi les stratégies efficaces permettant d'atteindre cet engagement. L'impact sur la communauté est la réduction de la morbidité grave due aux schistosomes en milieu rural et la guérison des malades leur permettant d'améliorer leur rendement.

7.2 Quatrième phase et évaluation finale du déparasitage dans 4 circonscriptions scolaires de la Région Atsimo Andrefana de la province de Toliara (06 mai - 02 juin)

Financement de la Principauté de Monaco, projet PAM MAG 39 36 01

• Introduction

Ce projet de déparasitage entre dans le cadre du projet de cantines scolaires du Programme Alimentaire Mondial (PAM) à Madagascar.

A l'origine, ce projet comprend 4 phases pendant lesquelles le personnel du LCB a toujours participé aux activités du projet :

- En 2004, la première phase effectuée a permis de dépister 19 écoles hyperendémiques en schistosomoses sur les 86 écoles visitées. Le traitement de la bilharziose et des autres helminthes a été réalisé, afin de réduire la morbidité, l'anémie, la malnutrition et d'obtenir un résultat scolaire satisfaisant.

- En 2005, les deuxième et troisième phases consistaient à réaliser le deuxième traitement de la bilharziose et des autres helminthes et le suivi de ce traitement.

- En 2006, la quatrième phase consiste en l'évaluation du projet.

• Objectifs

L'objectif global de cette activité de déparasitage étant l'élimination des parasites intestinaux affectant les élèves des écoles à cantines PAM, cette quatrième phase s'est fixée comme objectif spécifique d'évaluer les résultats de ces traitements tant sur la parasitologie que sur la croissance des élèves traités.

• Méthodologie

Pour cette évaluation, un examen parasitologique des selles a été effectué selon la technique merthiolate-iode-formol (MIF) concentration et un examen d'urine par la méthode des bandelettes réactives. La préparation et la lecture des prélèvements de selles au microscope optique ont été fait au LCB. Pour les urines, la lecture des bandelettes réactives a été effectuée sur place.

Les écoles "hyperendémiques" concernées par cette évaluation ont été tirées au sort aléatoire; pour les écoles "non hyperendémiques", il a été procédé un sondage en grappe. Un échantillonnage représentatif des élèves a été effectué dans toutes les écoles tirées au sort.

La saisie et l'analyse des données parasitologiques et staturo-pondérales ont été faites avec le logiciel Epi Info 6.04 fr.

• Résultats

Au total, 32 écoles ont été visitées et 1 707 élèves ont été tirés au sort pour cette évaluation.

Résultats parasitologiques (tableau I)

1 667 prélèvements d'urines et 1 690 prélèvements de selles ont été examinés.

- Pour la bilharziose uro-génitale, l'interrogatoire révèle que l'hématurie rapportée par les enfants au tout début du projet n'est plus présente dans la plupart des écoles. Quant à l'examen des urines par la méthode des bandelettes réactives, la prévalence globale de l'hématurie est de 15,1%. Deux écoles sur 11 visitées restent "hyperendémiques", la prévalence reste supérieure à 50% : Maniry dans la CISCO d'Ampanihy et Tameantsoa dans la CISCO de Betioky Sud. Les écoles "non hyperendémiques" n'ont pas bougé du statut d'endémicité.

18 enfants présentaient des œufs de *Schistosoma haematobium* dans les selles.

- Pour la bilharziose intestinale, la prévalence globale est de 3,14%. Les deux écoles "hyperendémiques" tirées au sort sont devenues "non hyperendémiques". Le tableau I résume les résultats obtenus

Tableau 1 : Niveau d'endémicité par circonscription scolaire

CISCO	Ecoles visitées en 2006	Nombre d'écoles hyperendémiques					
		2004			2006		
		UG	I	UG et I	UG	I	UG et I
Toliara II	13	3	0	1	0	0	0
Sakarahaha		0	2	0	0	0	0
Betioky Sud		2	0	0	1	0	0
Ampanihy	8	3	0	0	1	0	0
Total	32	8	2	1	2	0	0

En ce qui concerne les autres helminthes intestinaux, 243 enfants étaient parasités, soit une prévalence globale de 14,4%. Les enfants infestés par une seule espèce de parasite se répartissaient de la façon suivante : 36 par *Ascaris lumbricoides*, 83 par *Trichuris trichura*, 86 par *Hymenolepis nana*, 7 par *Strongyloides stercoralis*, 5 par *Ankylostoma spp.* 26 sont infestés par deux espèces d'helminthes. Pour le polyparasitisme, *Ascaris lumbricoides* a été observé chez 55 enfants, *Trichuris trichura* chez 101, *Hymenolepis nana* chez 100, *Strongyloides stercoralis* chez 7 et *Ankylostoma spp* chez 5 enfants.

Au cours de cette mission d'évaluation, 1 288 élèves ont été traités pour la bilharziose par du praziquantel ainsi que 7 enseignants dans des écoles "hyperendémiques" et 2 031 pour autres parasites.

2 736 comprimés de Praziquantel, 4 143 comprimés de Chlorphéniramine et 2 031 comprimés de Mebendazole ont été distribués.

Données staturo-pondérales

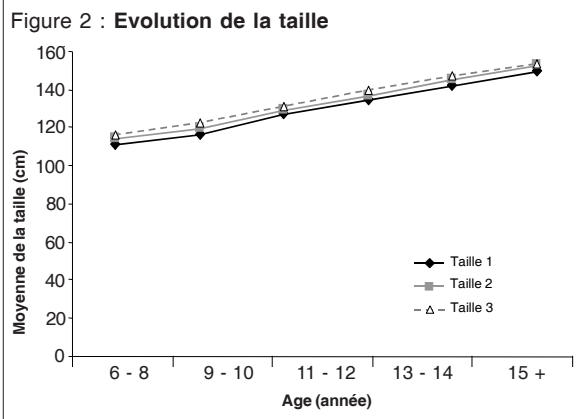
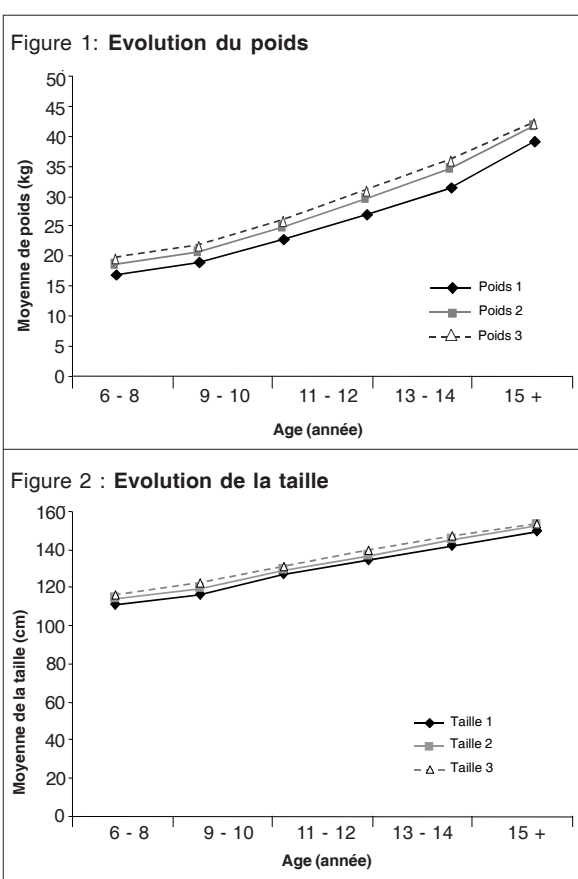
L'analyse des données staturo-pondérales ne concerne que les élèves tirés au sort pour les prélèvements et présents lors des trois visites, soit 1 078 élèves. 58% étaient de sexe féminin et 42% de sexe masculin (sex-ratio = 0,7).

L'âge de ces élèves variait de 6 à 18 ans. La moyenne était de 10,61. Les moyennes par classe étaient de 7,713 en CP1; 9,707 en CP2; 11,445 en CE; 12,758 en CM1 et 13,242 en CM2.

La première année (octobre 2004), le poids des enfants variait de 10 à 57 kg avec une moyenne de 23,45. La deuxième année (octobre 2005), il variait de 12,20 à 58,10 kg avec une moyenne de 25,8. Pour la troisième année (mai 2006), il variait de 13 à 60 kg avec une moyenne de 27,11.

La taille des enfants variait, la première année de 97 à 168 cm avec une moyenne de 126,36; la deuxième année de 99 à 171 cm avec une moyenne de 129,29 et la troisième année de 102 à 172 cm avec une moyenne de 131,55.

L'évolution du poids et de la taille par classe d'âge est représentée sur les figures 1 et 2.



• Commentaires

Cette mission a permis d'évaluer l'impact des deux traitements successifs administrés en 2004 et 2005 sur la parasitologie et sur le développement staturo-pondéral des élèves de 32 écoles visitées.

En effet, les prévalences globales des bilharzioses et des autres helminthes sont basses.

Sur les 11 écoles "hyperendémiques" visitées, seules 2 sont restées comme telle. Cette situation est due à l'insuffisance de l'approvisionnement en eau saine et surtout à la non utilisation des latrines. De nouvelles sensibilisations dans ce sens ont été réalisées. Pour les écoles devenues "non hyperendémiques", les enquêtes menées montrent que les enfants ne fréquentent plus trop les eaux suspectes.

Pour les autres écoles, le niveau d'endémicité reste le même c'est-à-dire "non hyperendémiques".

Ces résultats seraient encore meilleurs si le traitement de masse de la population de ces villages hyperendémiques était fait comme indiqué dans la politique nationale de lutte contre la bilharziose.

Pour les autres parasites intestinaux, bien que la prévalence soit basse, nous recommandons de continuer ce déparasitage tous les six mois.

Dans l'ensemble, le développement staturo-pondéral de ces enfants se fait d'une façon normale.

7.3 Enquête malacologique dans la commune de Mantasoa

• Introduction

Le lac Mantasoa est un lieu touristique situé à 60 km environ d'Antananarivo, dans le fivondronana de Manjakandiana. En 2004, des enquêtes parasitologiques et malacologiques ont été déjà effectués. Quatre cas importés de bilharziose à *Schistosoma mansoni* ont été dépistés. Aucun hôte intermédiaire de schistosome n'a été trouvé. La période d'enquête a eu lieu du mois de mars au mois de mai 2004. Cette année, pour compléter l'étude de la possibilité ou non de transmission de la bilharziose dans le lac de Mantasoa et ses environs, des enquêtes malacologiques ont été menées au mois de décembre au début de la saison de pluie.

• Objectif de la mission

L'objectif est d'effectuer des prospections malacologiques dans la commune de Mantasoa, Fivondronana de Manjakandiana afin de compléter la première enquête.

• Méthodologie

La recherche des mollusques se fait par l'utilisation d'une passoire métallique à raison de trente minutes par prospecteur et par gîte.

L'enquête malacologique a été réalisée dans les points d'eau fréquentés par les enfants porteurs de *S. mansoni* lors de l'enquête parasitologique menée en mai 2004. Ces points d'eau ont été déjà prospectés à cette époque, pendant et à la fin de la saison de pluie (mars à mai 2004).

Les gîtes prospectés sont les rivières, canaux d'irrigation, mares, lac. La plupart des rizières n'ont pas pu être prospectées à cause des travaux de riziculture. Le niveau de l'eau dans le lac a beaucoup baissé par rapport à celui de la première enquête.

• Résultats

Le *Biomphalaria pfeifferi*, hôte intermédiaire de *S. mansoni*, n'a pas été retrouvé. Les espèces récoltées sont le *Lymnea natalensis hoverum* et l'*Anisus crassilabrum* qui sont des mollusques ayant le même biotope que le *B. pfeifferi*. Les résultats de cette enquête malacologique figurent dans le tableau suivant.

Tableau II : Niveau d'endémicité par circonscription scolaire

Village	Gîtes prospectés	Espèces récoltées
Mantasoa		
- Domaine	Canal, mares	<i>Anisus crassilabrum</i>
- Barrage	Rivière, mare	<i>Lymnea natalensis hoverum</i>
- Ampiasanomby	Rivière, rizière	<i>Lymnea natalensis hoverum</i>
- Lac Mantasoa	Lac	Néant
- Andranomanadala	Mare	Néant
- Kongorevo	Lac	<i>Lymnea natalensis hoverum</i>
Lohomby		
- Soavinandriana	Canaux	<i>Lymnea natalensis hoverum</i>
- Ambodivona	Canaux	<i>Lymnea natalensis hoverum</i>
- Lohomby	Rivière	<i>Lymnea natalensis hoverum</i>

• Conclusion

L'enquête parasitologique menée en milieu scolaire en 2004 a permis de dépister 4 enfants infestés par *S. mansoni*. Ces enfants se seraient probablement infestés en dehors de Mantasoa, une notion de déplacement en zone d'endémie ayant été relevée. Par ailleurs, les enquêtes malacologiques réalisées à deux saisons différentes, pendant la saison des pluies et avant la saison des pluies, n'ont pas permis de retrouver le mollusque hôte intermédiaire de *S. mansoni*. Jusqu'à présent, la transmission de la bilharziose par *S. mansoni* dans le lac de Mantasoa n'a pas été prouvée. Une surveillance périodique de la parasitologie et de la malacologie s'avère nécessaire afin de confirmer l'absence de transmission de la bilharziose dans le lac de Mantasoa et ses environs.

Autres activités de santé publique

1- Activité de santé publique du Groupe de Recherche sur le Paludisme

1.1 Projet "Indicateurs RBM" : Surveillance des indicateurs du paludisme à Madagascar

L Raharimalala Andrianaivalona, LH Ranaivo, D Ménard

• Objectifs

(1) Mesurer les indicateurs d'impact notamment le taux de morbidité/mortalité hospitalière dû au paludisme et le taux d'infestation placentaire chez les accouchées.

(2) Récolter des indicateurs de résultats relatifs aux stratégies de prévention, de diagnostic et de traitement précoce des cas, aux actions communautaires ainsi qu'à la recherche opérationnelle

• Présentation du projet et des résultats préliminaires

Le Ministère de la Santé et du Planning Familial (MinSanPF), l'IPM et la Banque Mondiale (via Cresan 2), ont mis en place un projet visant à renforcer les systèmes d'informations sanitaires, pour garantir la fiabilité des rapports sur les cas déclarés de paludisme et de décès subséquents dans le cadre du système intégré de surveillance de la maladie, afin de permettre un suivi et une évaluation des stratégies du Programme National de Lutte contre le Paludisme.

Ce projet a vu la participation du MinSanPF à travers la Direction des Urgences et de la Lutte contre les Maladies Transmissibles (DULMT) et le Service de Lutte contre le Paludisme (SLP); les Directions Provinciales de Santé (DPS) actuellement remplacées par les Directions Régionaux de Santé (DRS); les Services de Santé du District (SSD); les Responsables Palu Provinciaux (RPP); les Centres Hospitaliers concernés (CH).

La coordination a été assurée par le SLP et l'IPM. La BM via Cressan 2 en a assuré le financement.

Douze médecins ont été recrutés et répartis dans 12 centres hospitaliers représentatifs (de district, universitaire, de référence) pour une étude prospective. Ils avaient pour rôle de mesurer des indicateurs d'impact (mortalité et morbidité hospitalière, infestation placentaire, faible poids à la naissance) et de récolter des indicateurs de résultats (chimio prophylaxie médicamenteuse

et mécanique, diagnostic et prise en charge des cas, actions communautaires, recherche opérationnelle). La population d'étude était constituée par les patients hospitalisés pour suspicion de paludisme et les femmes venant accoucher dans ces centres. Tout patient ou femme accouchée enrôlé et invité à répondre à un questionnaire, a fait l'objet d'un examen clinique et d'un examen biologique (goutte épaisse et frottis mince avec apposition placentaire en plus chez la femme accouchée).

Quatre séries de supervision ont été effectuées.

Les résultats et les prélèvements collectés sont en cours d'analyse.

1.2 Améliorer la prise en charge des malades : aspect diagnostic

L Rabarijaona, M Randrianariveolosia, D Ménard

• Objectifs

Amélioration de l'accès aux outils de diagnostic du paludisme à Madagascar en (1) assurant l'achat, le stockage et la distribution des tests de diagnostic rapide (RDT) et (2) assurant la formation des agents de santé à l'utilisation des RDT.

• Présentation du projet et des résultats préliminaires

Pour ce projet, l'IPM assure l'achat, la distribution des bandelettes réactives (RDT) et la formation de personnel de la santé dans différentes structures.

Différentes missions ont été effectuées depuis avril 2005. Au total jusqu'en décembre 2006, 15 078 tests rapides ont été distribués et 572 personnes formées à l'utilisation de ces tests.

Sachant que le MinSanPF prévoit une utilisation à grande échelle de bandelettes pour accompagner l'utilisation de traitements combinés à base de dérivés d'artémisinine, ces personnes formées par l'IPM sont déjà opérationnelles.

Les résultats de cette étude permettront d'apprécier le poids du paludisme parmi les sujets consultants dans les centres de santé de base et de mieux connaître la répartition des principales espèces responsables du paludisme à Madagascar afin d'actualiser la nouvelle édition de l'Atlas du Paludisme.

1.3 Evaluation des caractéristiques techniques de 3 RDT retenus dans l'appel d'offre GF 4^{ème} round pour le diagnostic du paludisme à Madagascar

A Ratsimbasoa, A Randriamanantena, R Raherinjafy, N Rasoarilalao, D Ménard

• Objectifs

Evaluation dans les conditions de terrain et au laboratoire des caractéristiques de 3 tests de diagnostic rapide du paludisme basé sur la détection de la pLDH en terme de sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive et négative (VPP, VPN), de précision et de seuils de détection spécifique (pLDH de *P.falciparum*, pLDH des espèces autres que *P. falciparum*).

• Présentation du projet et des résultats préliminaires

Dans le cadre de la réalisation du projet Global Fund 4^{ème} Round (GF4) pour Madagascar, l'UGP-CRESAN-2 (Principal Récipiendaire), pour le compte du Programme Paludisme/Service de Lutte contre le Paludisme (Sub-Récipiendaire), a lancé un appel d'offre pour l'acquisition de tests de diagnostics rapides (RDT), ces tests permettant d'assurer une utilisation rationnelle des ACT (traitements combinés à base de dérivés d'artémisinine) introduits dans le Programme national de lutte antipaludique. Ces RDTs doivent servir à confirmer le diagnostic avant de traiter les patients par les ACT. Trois fournisseurs de RDT ont répondu à l'appel d'offre, et trois marques de RDTs sont ainsi en compétition : CareStart™ Malaria (Access Bio®), SD Malaria Antigen Bioline™ (Standard Diagnostics®) et OptiMAL-IT™ (DiaMed AG®).

1.4 Evaluation de l'efficacité thérapeutique des antipaludiques à Madagascar et surveillance de la résistance des souches de *Plasmodium falciparum*

A Ratsimbasoa, A Randriamanantena, D Raveloariseheno, V Rabekotonirina, H Ranaivoson, DI Ralaizandriny, N Rasoarilalao, B Razanadrazanina, M Randrianarivojosia, MA Ranaivojaona, M Jahevitra, H Andrianantenaina, D Ménard

• Objectifs

Surveillance de l'efficacité des antipaludiques vis-à-vis de *P. falciparum* à Madagascar : approche *in vivo* et *in vitro* (phénotypique et génotypique) par :

1) la restructuration du Réseau d'Etude de la Résistance (RER) et la mise en place de 8 sites sentinelles "représentatifs" des différents faciès épidémiologiques du paludisme à Madagascar

2) la création d'un réseau d'expertise, d'échange et

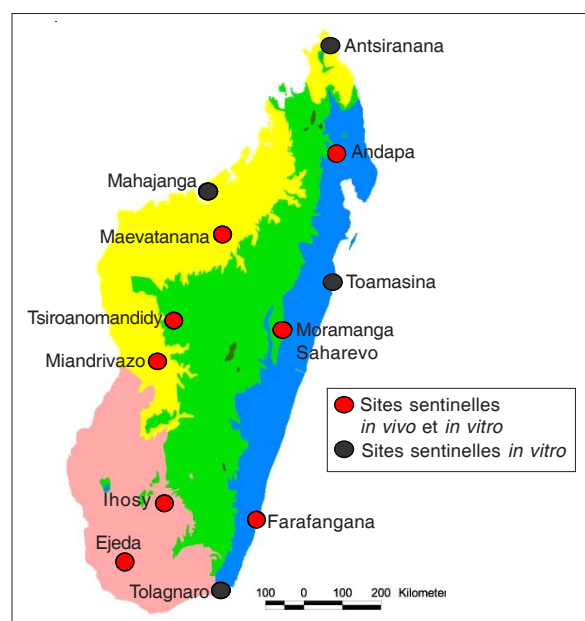
de formation regroupant les différents interlocuteurs et institutions impliquées dans la lutte contre le paludisme à Madagascar et dans l'Océan Indien

3) contribution à la mise en place d'un Centre National de Référence d'étude de la Chimiosensibilité du paludisme (CNRCP).

• Présentation du projet et des résultats préliminaires

Au cours de l'année 2006, l'évaluation de l'efficacité thérapeutique de la chloroquine, de l'amodiaquine, de l'association sulfadoxine-pyriméthamine et de la combinaison artésunate-amodiaquine a été réalisée dans 7 sites sentinelles. Le protocole retenu a été le suivant (OMS 2003) : étaient inclus dans l'étude les enfants de moins de 5 ans présentant une infection à *P. falciparum* avec une densité parasitaire comprise entre 1000 et 200 000 parasites par μ l, une température axillaire = 37.5°C et n'ayant pas de signes de gravité. Les sujets inclus ont été traités par l'une des molécules et suivis pendant 28 jours. Au cours de ces missions, tous les prélèvements positifs à *P. falciparum* ont été envoyés au laboratoire pour permettre la surveillance longitudinale de la résistance des parasites par des tests *in vitro* (phénotypique et génotypique).

Les 8 sites retenus se répartissent de la façon suivante : faciès équatorial (Farafangana et Andapa), faciès tropical (Maevatanana et Miandrivazo), faciès subaride du Sud (Ihosy et Ejeda) et faciès des plateaux (Moramanga et Tsiroanomandidy).



L'analyse des résultats des sites sentinelles de Maevatanana (222 sujets inclus, CQ=55, AQ=56, SP=56 et AQ+AS=55), Miandrivazo (272 sujets inclus, CQ=66,

AQ=69, SP=69 et AQ+AS=68), Ihosy (248 sujets inclus, CQ=62, AQ=62, SP=61 et AQ+AS=63), Ejeda (202 sujets inclus, CQ=51, AQ=51, SP=50 et AQ+AS=50), Moramanga (198 sujets inclus, CQ=42, AQ=39, SP=40 et AQ+AS=40) et Tsiroanomandidy (141 sujets inclus, CQ=43, AQ=48, SP=48) sont en cours d'analyse. Au cours de l'année 2007, le même protocole sera utilisé dans les sites d'Andapa et de Farafangana.

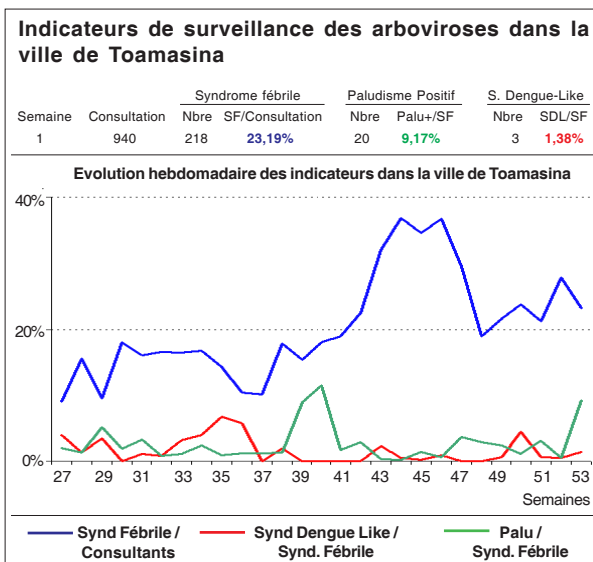
2- Laboratoire pour les Arbovirus et les virus responsables des Fièvres Hémorragiques

JM Reynes, Andriamandimby SF, NS Andriamamonjy, J Razainirina, RD Andrianimanana

Les activités de surveillance ou de recherche ont débuté à l'IPM en 1976. Les résultats de ces activités ont contribué fortement à maintenir la notoriété nationale et régionale de cet Institut dans l'Océan Indien. Malheureusement, faute de ressources humaines, cette activité a cessé en 2000. Le plan stratégique à 5 ans, développé en 2005, a placé dans les priorités cette thématique. Un premier projet de surveillance sentinelle de la dengue motivé par la circulation de ce virus à Nosy Be n'a pas convaincu les bailleurs de fond. Par contre, la survenue dans cette région de l'Océan Indien de l'épidémie due au virus Chikungunya a donné un regain d'intérêt envers cette activité. C'est ainsi que, suite à l'épidémie de fièvre à Chikungunya et de dengue qui a sévi à Toamasina en février 2006, nous avons pu débiter en juillet une surveillance sentinelle sur cette ville. Le financement a été obtenu auprès de la Direction Régionale de la Santé bénéficiant d'un fond de soutien du Ministère Français des Affaires Etrangères. Ce projet a permis de mettre en place au cours de l'année certaines des techniques permettant le diagnostic des arboviroses et de fabriquer les réactifs nécessaires à ce diagnostic.

La surveillance sentinelle comprend 5 centres de surveillances cliniques (CSB) de la ville de Toamasina et 1 centre de surveillance biologique (un des 5 centres de surveillance clinique). Ces centres dénombrent de manière hebdomadaire les consultants externes, les cas de fièvre, les cas de paludisme tels qu'ils sont notifiés dans le rapport mensuel d'activité, le nombre de cas de paludisme confirmés et le nombre de cas de syndrome dengue-like suspects d'arboviroses (fièvre + 3 symptômes parmi céphalées, myalgies, arthralgies, douleurs rétro-orbitaires, hémorragie, éruption cutanée). Ces données sont relevées par tranche d'âge. Le centre de surveillance biologique se charge de relever des données concernant le cas, de prélever du sang [au cas suspect d'arbovirose évoluant depuis moins de 5 jours] et de congeler le sérum dans un cryotube conservé dans

un conteneur d'azote liquide à sec. Une fois par semaine (le mercredi), les données relevées et le conteneur d'azote sont transmis via les autorités sanitaires du district et de la région et par la société Colis Express, à l'IPM. Dans la même journée, le conteneur est rapporté par la société Colis Express à Toamasina. Les données cliniques sont analysées au plus tôt et l'analyse est diffusée par email vers la Direction Régionale de la Santé, la Direction des Urgences et de la Lutte contre les Maladies Transmissibles, avec éventuellement un message d'alerte. Les sérums sont analysés et les résultats disponibles pour la semaine suivante. Ils sont diffusés également par email mais repartent aussi avec le conteneur par transport routier. Les analyses systématiques comprennent actuellement une recherche du génome des virus de la dengue et du virus Chikungunya. et des IgM dirigées contre ces virus (technique ELISA).



Le bilan de la surveillance clinique est présenté sur la figure. Le pourcentage de syndromes fébriles par rapport au nombre de consultants est passé sur deux périodes au dessus du seuil des 20%. La première fois, porte sur les semaines 42 à 46 : il s'agissait de syndromes grippaux et l'envoi de milieu de transport viral pour la récolte d'écouvillons naso-pharyngés au centre de surveillance biologique a permis de confirmer la présence de virus grippal H3N2 chez 8 des 10 patients suspects prélevés. La deuxième fois porte sur le dernier mois de l'année. Il ne s'agissait pas encore de syndrome dengue like mais vraisemblablement du début de la circulation du paludisme dans la ville sans que cela puisse être clairement établi, faute de demande de diagnostic.

La surveillance biologique des arboviroses a été peu active faute de cas suspect dans le centre de surveillance

biologique et d'une manière générale dans la ville de Toamasina. Quinze patients ont été prélevés. Le virus Chikungunya a été détecté 7 fois et régulièrement, en juillet (1 cas), août (3 cas), novembre (2 cas) et décembre (1 cas) mettant en évidence une endémisation du virus. Le virus de la dengue 1 a été détecté une fois en décembre. Il n'y a pas eu de diagnostic positif pour les autres patients testés. Nous n'avons pas mis en évidence sur la période écoulée de recrudescence des syndromes dus à ces virus.

Cette surveillance sentinelle des arboviroses aura servi de première expérience à Madagascar. En 2007, la surveillance sentinelle devrait être élargie et concerner 10 centres sentinelles cliniques (dans 10 villes) dont quatre centres sentinelles biologiques. Elle devrait être améliorée afin d'obtenir une circulation plus rapide des informations afin de pouvoir jouer plus efficacement son rôle d'alerte d'une part au niveau national et d'autre part au niveau régional.

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.

Centre de Biologie Clinique

- **JF Carod** : pharmacien biologiste, chef de service - laboratoire d'analyses biomédicales
- **EH Ratsima** : médecin biologiste, adjoint au chef de service - laboratoire d'analyses biomédicales
- **F Randrianirina** : médecin biologiste, adjoint au chef de service - laboratoire d'analyses biomédicales
- **C Raharisolo Vololonantenaina** : médecin, responsable du laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques
- **V Thonier** : pharmacien biologiste, volontaire international (jusqu'au 28 février)
- **JB Chrétien** : pharmacien biologiste, volontaire international (depuis le 3 avril)

Laboratoire d'analyses biomédicales (LABM)

• *L'IPM, centre de recherche biomédicale met ses compétences et ses capacités techniques au service du public en lui offrant le plus large éventail possible d'analyses médicales réalisées au Centre de Biologie Clinique (CBC) dans les meilleures conditions de fiabilité, de rapidité et de coût.*

• *Les moyens techniques et les compétences du CBC sont aussi mis au service de divers protocoles de recherche de l'IPM ou de l'extérieur. Par ailleurs, c'est au sein du CBC que se développent des programmes spécifiques et multicentriques de recherche opérationnelle au sein du Réseau International grâce notamment à l'embauche de deux médecins biologistes malgaches.*

• *Par son recrutement et ses techniques de référence, le CBC joue un rôle important dans la surveillance épidémiologique des maladies infectieuses et la réponse rapide aux épidémies. Le CBC associé au LHAÉ est Centre National de Référence pour *Vibrio cholerae*, *Salmonella* et *Shigella*.*

• *Enfin, le CBC tient un rôle majeur en participant à la formation théorique et pratique des médecins biologistes et techniciens de laboratoire à Madagascar.*

1- Principales ressources en matériels

1.1 Matériels informatiques

- 1 Unité centrale : UNIX Escala E250 (4.5MgB)
- 22 micro-ordinateurs servant d'écrans à l'unité centrale
- 16 imprimantes dont 2 code barre pour l'accueil
- 1 logiciel GALAXY II de la société Hexaflux.

1.2 Automates de laboratoire

- *Biochimie* :
 - 1 VITROS 250 (avec connexion bidirectionnelle, identification code barre)
 - 1 VITROS 350 (avec connexion bidirectionnelle, identification code barre)

- 1 Générateur d'électrophorèse Helena (intégrateur inclus)

- 1 Automate d'HbA1c DIASTAT Biorad.

• *Hormono/Immuno* :

- 1 Mini VIDAS Biomérieux

- 2 VIDAS Biomérieux en connexion monodirectionnelle

- 2 AxSYM ABBOTT (automates multiparamétriques avec lecteur code barre, connexion bidirectionnelle).

• *Hématologie* :

- 1 Pentra 120 Retic (ABX) avec connexion monodirectionnelle code barre

- 1 Pentra 60 (ABX) avec connexion monodirectionnelle

- 1 Start 4 Stago

- 1 centrifugeuse Carte gel Groupe RAI BIORAD

- 1 centrifugeuse Carte gel Groupe DIAMED

- en cours de négociation (installation de 2 Automates Sysmex ® 2000 et 1800.

• *Bactériologie* :

- 1 OSIRIS BIORAD (reçu dans le cadre du projet FSP/résistance)

- 1 Inoculateur pour CMI (reçu dans le cadre du projet FSP/résistance).

2- Activités mensuelles comparées du LABM (2005-2006)

Tableau I : Activités exprimées en "B"

Mois	2005	2006	Différence
Janvier	805 462	891 469	+ 86 007
Février	789 233	870 403	+ 81 170
Mars	853 458	948 316	+ 94 858
Avril	792 142	828 426	+ 36 284
Mai	755 874	885 891	+ 130 017
Juin	676 472	724 201	+ 47 729
Juillet	683 520	764 661	+ 81 141
Août	764 058	809 549	+ 45 491
Septembre	805 934	820 636	+ 14 702
Octobre	773 763	804 112	+ 30 349
Novembre	930 205	785 793	- 144 412
Décembre	822 469	591 880	- 230 589
Totaux	9 454 595	9 725 337	+ 270 742

La baisse enregistrée en 2005 par rapport à 2004 a cessé en 2006 pour donner lieu à une légère remontée. A l'exception d'une baisse brutale des entrées en novembre-décembre 2006, liée au fait que les prises en charges par le Ministère malgache des Finances n'étaient momentanément plus acceptées par l'IPM.

3- Activités annuelles comparées du LABM (2005-2006)

Tableau II : Répartition par "Correspondants"

Correspondant	2005	2006	Différence
A (Tarif de base)	24 512	26 803	+ 2 291 (9%)
B (Tiers payant)	8 656	7 045	- 1 611 (-18%)
C (Tarif normal)	2 877	3 290	+ 413 (14%)
D (Administration)	9 405	9 597	+ 192 (2%)
E (Extérieurs payants)	4 320	4 341	+ 21 (0%)
G (Gratuit)	194	360	+ 166 (85%)
Divers (Recherche...)	5 001	2 543	- 2 458 (-49%)

Il n'y a pas de modification significative de la répartition des secteurs tarifaire.

Le tarif de base concerne les patients malagasy sans prise en charge (A), il représente 47% des dossiers; suivi des tiers-patients (B+D+E) 37%. Les patients étrangers représentent 5,8% de la patientèle globale.

4- Activités de service en biologie médicale

Parmi les 53 980 dossiers traités par le laboratoire, près de 16,37% concernent des enfants :

de 0 à 1 an : 3 614 dossiers

de 1 à 5 ans : 1 859 dossiers

de 5 à 15 ans : 3 363 dossiers

Prélèvements reçus de l'extérieur : 11 442 dossiers.

La liste des examens réalisables au CBC est consultable sur le site Internet de l'IPM.

Le panel d'examens proposé est :

- Biochimie sanguine 42 paramètres différents
- Biochimie urinaire 21
- Biochimie divers 2
- Hormonologie 17
- Marqueurs tumoraux 4
- Hématologie 16
- Sérologie bactérienne 7
- Sérologie virale 11
- Sérologie parasitaire 7
- Bactériologie 17
- Mycobactériologie 4
- Parasitologie 12
- Immunologie 5
- Biologie reproduction 2

- Virologie 1
- Anatomopathologie 8

Les examens les plus demandés en 2006 ont été :

- Numération Formule 19 719
- Glycémie 13 847
- VS 12 904
- Créatinine 12 424
- Cholestérol 10 123
- Triglycérides 9 242
- K/Na/Cl 8 690
- Transaminases 8 159
- Urée 7 562
- Sérologie Cysticercose 6 293

La qualité au CBC

La généralisation des contrats de maintenance pour les automates.

La structuration de la cellule qualité du CBC : 2 techniciens correspondants qualité et un responsable hygiène et sécurité, 4 biologistes vérificateurs et 1 biologiste responsable qualité sous la responsabilité du chef de service.

La standardisation de présentation des Modes Opératoires et Procédures a été poursuivie (utilisation du modèle de procédure de l'IPM). Objectif : clôture de l'ensemble des MO et procédures analytiques.

La poursuite du programme de contrôle de Qualité interne et externe a été poursuivi avec mise en place complète de :

- contrôle interne quotidien pour la Biochimie Sanguine PROBIOQUAL
- contrôle interne quotidien pour l'hématologie cytologie HYCELL
- contrôle interne quotidien pour l'hématologie coagulation PROBIOQUAL
- contrôle interne pour les CD4/CD8 HYCELL
- contrôle interne quotidien pour Vitesse sédimentation HYCELL
- contrôle interne pour réticulocytes HYCELL
- contrôle interne antibiogramme régulier Bactériologie (souche ATCC)
- contrôle interne mensuel Hormonologie - marqueurs PROBIOQUAL PBQ Interne
- contrôle externe hebdomadaire Biochimie Sanguine PROBIOQUAL
- contrôle externe mensuel pour la Biochimie urinaire PROBIOQUAL
- participation au contrôle Français AFSSAPS Biochimie-Bactériologie-Parasitologie-Hormonologie-Groupe sanguin

- participation au contrôle de "Office of Medical Services Laboratory Proficiency Testing Program", Ambassade USA

- inscription au programme medecinim@ge : cytologie, hématologie, parasitologie, mycologie.

5- Activités de santé publique

5.1 FSP résistance aux antibiotiques

Objet

Constitution d'un réseau d'étude de la résistance aux antibiotiques dans les pays de la zone FSP pour :

- standardiser les méthodes d'étude de la résistance dans les différents instituts du Réseau International des Instituts Pasteur afin d'avoir des résultats comparables pour des pays de la zone FSP,

- introduire une démarche qualité et des contrôles de qualités internes et externes identiques dans tous ces instituts,

- définir un domaine d'expertise en antibiorésistance à ces différents instituts.

Le projet a été accepté par le comité d'éthique malgache sous le thème "Surveillance et analyse des résistances des micro-organismes aux anti-infectieux à Madagascar" dans son ensemble à la date du 20 février 2004.

L'IPM a participé sur 3 composantes : sensibilité d'*Escherichia coli* dans les urines, sensibilité des bactéries entéro-pathogènes et sensibilité de *N. gonorrhoeae*. Le résultat de l'enquête d'*E. coli* dans les urines a été donné dans le rapport 2005. De même pour la composante sur les bactéries entéro-pathogènes.

Pour la résistance de *N. gonorrhoeae*, les CMI ont été réalisées par la technique de dilution en milieu gélosé sur gélose chocolat + polyvitex.

Les résultats sont présentés dans le tableau III.

Tableau III : Etude de la sensibilité à 5 antibiotiques de 68 souches de *Neisseria gonorrhoeae* à Antananarivo

	S	I	R	CMI50	CMI90	Etendue	Moyenne géométrique
	N (%)	N (%)	N (%)				
Pénicilline	11 (16,2)	36 (52,9)	21 (30,9)	0,25	128	0,008-128	0,68
Spectinomycine	67 (98,5)	0	1 (1,5)	16	32	1-128	12,83
Ceftriaxone	68 (100)	0	0	0,004	0,016	0,001-0,03	0,0051
Ciprofloxacine	57 (83,8)	6 (8,8)	5 (7,4)	0,004	0,06	0,001-1	0,0066
Tétracycline	5 (7,4)	7 (10,2)	56 (82,4)	32	32	0,5-64	14,76

Etude la sensibilité des germes isolés d'infections urinaires à Antananarivo : il s'agissait d'une étude rétrospective menée sur les bactéries responsables

d'infections urinaires communautaires isolées à l'IPM de janvier 2004 à avril 2006, 903 germes ont été isolés de 886 patients, plus de 85% des isolats étaient des Entérobactéries : *E. coli* (67,2%), *Klebsiella pneumoniae* (9,6%), *Proteus mirabilis* (3,6%), autres Entérobactéries (5,5%). Les autres bactéries Gram-négatif (*Pseudomonas spp.*, et *Acinetobacter spp.*) représentaient 2,2% des isolats. Seulement 11,4% des isolats étaient des bactéries Gram-positif : *S. aureus* (3,9%), *Enterococcus faecalis* (2,8%), *streptococci* (3,2%), *Staphylococcus coagulase négative* (1,5%), *Candida albicans* a été isolé chez 5 patients.

La résistance aux antibiotiques des bactéries gram-négatif est présentée dans le tableau IV. La résistance à l'amoxicilline et au triméthoprim-sulfaméthoxazole est très importante. La résistance à la ciprofloxacine est encore modérée mais le phénomène inquiétant vient de l'augmentation du nombre de souches présentant une bêta-lactamase à spectre étendu entre 2004 et 2006.

Tableau IV : Sensibilité des bactéries gram négatif isolées d'infections urinaires communautaires

Antibiotiques	<i>Escherichia coli</i> (n = 607)			Autres Entérobactéries (n = 168)			Tous gram négatif (n = 794)		
	R (%)	I (%)	S (%)	I (%)	S (%)	R (%)	I (%)	S (%)	
Amoxicilline	73,8	3,3	22,9	85,7	2,4	11,9	77	3	20
Amoxicilline/ A. clavulanique	11,5	43,7	44,8	30,4	21,4	48,2	17,6	37,9	44,5
Ticarcilline	73,8	2,8	23,4	73	3	24	72,6	3,7	23,7
Céphalotine	19,6	35,9	44,5	31,5	20,8	47,6	24,1	31,9	44
Céfamandole	16,4	36,6	47	17,4	30,4	52,2	23	32,7	44,3
Céfoxitine	3,9	3,4	92,7	15,3	11,7	73	8,8	4,9	86,3
Ceftriaxone	3,1	1,6	95,3	7,1	2,5	90,4	5,9	1,5	92,6
Ceftazidime	3,1	1,6	95,3	7,1	2,5	90,4	4,1	2	93,9
Gentamicine	9,1	0,3	90,6	9,5	1,2	89,3	10,2	0,6	89,2
Amikacine	0,6	1,7	97,8	2,2	2,1	95,7	1,2	2	96,8
Tobramycine	16	2,2	81,8	19,1	4,3	76,6	17,4	3,2	79,4
Nétilmicine	0	4,2	95,8	16,7	16,7	66,6	3,3	6,7	90
Acide Nalidixic	25,3	-	74,7	21,6	-	78,4	26,3	-	73,7
Ciprofloxacine	16,4	-	83,6	11,9	-	88,1	15,6	-	84,4
Fosfomycine	0,2	-	99,8	14,3	-	85,7	4,6	-	95,4
Nitroxoline	-	98,8	1,2	2,2	1,1	96,7	1,4	97	1,6
Triméthoprim/ Sulfaméthoxazole	69,5	3,6	26,9	47,9	6	46,1	65,7	4	30,3

Une étude rétrospective sur la sensibilité des *S. aureus* isolés à l'IPM de janvier 2001 à décembre 2005 a été réalisée par diffusion en milieu gélosé sur 18 antibiotiques.

Parmi 574 isolats, 506 étaient issus d'infections communautaires et 68 d'infections nosocomiales. Il n'y avait pas de différence significative dans la résistance à l'oxacilline entre les souches communautaires (33 sur

506; 6,5%) et les souches nosocomiales (3 sur 68, 4,4%). Beaucoup de souches résistantes à l'oxacilline l'étaient aussi à d'autres antibiotiques. La résistance à la tétracycline, au triméthoprime/sulfaméthoxazole et à l'érythromycine étaient les plus fréquentes. Chez les souches résistantes à l'oxacilline, parmi les antibiotiques disponibles à Madagascar, les taux de résistance les plus bas étaient observés avec la rifampicine, l'acide fusidique, la gentamicine et la ciprofloxacine. Aucun isolat n'était résistant aux glycopeptides.

5.2 Etude de la Sporotrichose à Madagascar

Dr JF Carod, Dr P Grosjean

Travail en collaboration avec le service de Dermatologie et de Parasitologie de l'HJRA. Collaboration également avec le Centre National de Mycose et Antifongiques (IP à Paris)

Objet

Evaluer l'importance de Sporotrichose sur des patients suspects adressés en dans le service Dermatologie et de Parasitologie de l'HJRA.

Patients et méthodes

L'inclusion des patients s'étendait sur une période de 6 ans et demi (janvier 2000 à juin 2006).

Les examens mycologiques étaient réalisées à partir de plaies cutanées, ou de prélèvements d'environnement sur sites (sols, feuilles,).

Résultat

On rapporte le premier isolement de *Sporothrix schenckii* à Madagascar à l'occasion de 19 cas de sporotrichose diagnostiqués entre septembre 2001 et décembre 2004.

L'envoi de toutes les souches suspectes au Centre National de Référence Mycoses et Antifongiques à l'Institut Pasteur de Paris a permis de confirmer l'identification de *Sporothrix schenckii*.

Des 34 cas inclus, 21 étaient collectés durant les 78 mois d'étude. On notait une nette prédominance féminine avec un sex-ratio à 0,23. La moyenne d'âge était de 51 ans, allant de 24 à 76 ans. La grande majorité des

patients étaient des agriculteurs, soit 86,15% des cas. Tous les cas recensés provenaient des Hautes Terres de Madagascar, dont le tiers (33%) était originaire d'Andramasina, un village à 30 kilomètres au sud d'Antananarivo.

Tous les patients se sont contaminés à partir d'une écorchure lors de travaux de champs et/ou de ferme. Ils venaient en consultation pour de lésions ulcérées chroniques évoluant depuis au moins 3 mois, avec un maximum de 3 ans. Tous les patients avaient déjà reçu de multiples antibiotiques non spécifiques en application locale ou par voie générale, sans amélioration.

Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques

Globalement, les activités du laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques représentent 254 450 B, elles correspondent à 3 406 prélèvements dont 71% sont des frottis cervicaux pour un examen de dépistage. Par rapport à l'année 2005, il existe une augmentation de 6% (tableau). Cette augmentation intéresse presque tous les secteurs. Elle est surtout constatée après une campagne de sensibilisation auprès des médecins prescripteurs.

Evolution des activités du laboratoire de 2005 à 2006

Dénomination	2005		2006	
	B	Examens	B	Examens
Cytologie de dépistage	137 040	2 284	145 620	2 427
Cytologie hormonale	4 400	20	2 200	10
Cytologie des épanchements	22 300	223	24 600	246
Cytoponction	2 900	24	2 420	20
Biopsie unique	29 500	295	31 500	315
Deux biopsies	1 100	11	1 300	13
Trois biopsies	200	2	0	0
Biopsie multiple	1 430	11	1 430	11
Pièce opératoire unique	33 000	275	40 560	338
Deux pièces opératoires	3 000	25	1 080	9
Trois pièces opératoires	720	6	0	0
Pièce opératoire multiple	4 180	19	3 740	17
Total	239 770	3 195	254 450	3 406

Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement

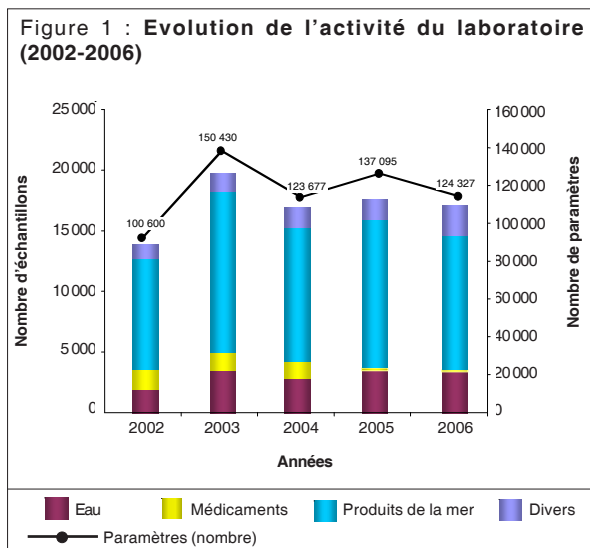
- **M Gay** : ingénieur en microbiologie alimentaire et assurance qualité, chef de service
- **N Ravaonindrina** : médecin, responsable technique
- **M Gouali** : pharmacienne, responsable qualité
- **C Rahanjavelo** : ingénieur, hygiéniste jusqu'au 13 juin 2006
- **YL Tam Teon** : conseiller qualité en entreprises à compter du 1^{er} décembre 2006

Le projet d'accréditation du laboratoire par le Cofrac pour le programme 59 (analyses microbiologiques des produits agro-alimentaires) est l'objectif majeur que s'est fixé le laboratoire pour l'année 2006. Sous l'impulsion de la responsable qualité l'ensemble du personnel du laboratoire s'est préparé à l'audit initial qui s'est déroulé les 20 et 21 novembre avec un auditeur qualité et un auditeur technique. Le rapport d'évaluation en date du 22/12/06 décrit la situation observée et précise les axes d'amélioration que le laboratoire s'est engagé à mettre en œuvre dans des délais relativement courts. Une notification suite à l'évaluation initiale sera communiquée par le Cofrac après étude du dossier en commission d'évaluation.

1- Activités de service

Après une reprise significative de l'activité générale au laboratoire en 2005 (+11%) un tassement se fait ressentir en 2006 (-9,3%) qui se répartit comme suit :

- Produits de la mer (PDM) : - 9,10 %
- Eaux : - 2,20 %
- Divers : + 40,10 %
- Médicaments : - 40,90 %



Le LHAE assure dans le cadre de la création du CNR des Vibrions, Salmonelles et Shigelles en partenariat avec le laboratoire de biologie clinique de l'IPM le sérotypage de l'ensemble des souches de Salmonelles isolées à l'IPM selon la répartition suivante :

Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement			Centre de Biologie Clinique	
Sérovars	Nb	Aliments incriminés	Sérovars	Nb Sources
Enteritidis	17	poulet	Enteritidis	5 coproculture
Bardo	4	poulet	Enteritidis	2 hémoculture
Saint Paul	1	eau d'élevage de crocodiles	Typhi	1 coproculture
Lerum	1	poulet	Typhi	1 hémoculture
Munster	1	eau d'élevage de crocodiles	Give	1 coproculture
Newport	1	poulet		
9,12:-:-	1	poulet		

Aucune souche de vibrion n'a été isolée des produits analysés, toutefois le laboratoire a reçu de la part des opérateurs halieutiques cinq souches à confirmer. Les cinq souches de vibrions parahaemolyticus ont été confirmées conjointement par le CNRV de l'Institut Pasteur à Paris et le LHAE.

1.1 Produits de la mer (PDM)

Malgré une amélioration annoncée des résultats économiques en 2006 pour la filière crevettière, nous notons une diminution globale des analyses des produits de la mer, très certainement du fait d'un allègement des plans d'échantillonnages pour les contrôles officiels de quelques opérateurs en démarche qualité bien avancée.

L'analyse globale des résultats montre une nette amélioration de la qualité des produits de la mer à l'exportation avec 0,6% des échantillons déclarés non conformes en 2006 pour 2,40% en 2005.

1.2 Autres denrées alimentaires

Poursuite de l'amélioration significative de la qualité des produits laitiers et des plats cuisinés en général par rapport aux années précédentes.

- Produits laitiers

7,6% de non-conformes en 2006
9,3 % en 2005
25% en 2004
et 40,5 % en 2003

- Plats cuisinés

23,2% de non-conformes en 2006
28,3% en 2005
32,5% en 2004
et 23% en 2003.

Par contre nous observons un net recul de la qualité des produits carnés analysés au laboratoire avec 63,8% de non conformes contre 24% en 2005 et 29,2 % en 2004 (appréciation en pourcentage d'échantillons non conformes).

1.3 Analyses des eaux

• Eaux de baignade

Ces analyses concernent les eaux des piscines de la zone urbaine et suburbaine d'Antananarivo (hôtels et centres de loisirs). Une légère amélioration de la qualité globale de ces eaux est notée avec 21,5% de non conformes en 2006 contre 25% en 2005, 31% en 2004 et 26,8% en 2003 avec la répartition suivante :

- Staphylocoque pathogène 35% (27% en 2005),
- Coliformes fécaux 17,5% (31% en 2005)
- ou les deux associés 5% (8,3% en 2005).

• Eaux de boisson

Les eaux brutes et les eaux de surface sans traitement continuent d'être un problème en santé publique par la présence de flores d'origine fécale dès lors qu'elles sont consommées par une partie importante de la population :

- 89,6% des eaux analysées sont non conformes avec une prévalence de 64,4% d'*Escherichia coli* et 80,6% de Streptocoques fécaux.

Concernant les eaux d'adduction distribuées dans la capitale et les principales villes malgaches par la JIRAMA (société d'exploitation industrielle de l'eau et de l'électricité), l'amélioration n'est pas significative par rapport à l'année 2005 : 4,1% (96/2320) de non conformes en 2006 contre 5,5% en 2005 et 1,72% en 2004 avec les prévalences de non conformité suivantes :

- 63,8% (70,25% en 2005) par la présence de Coliformes totaux, marqueurs d'une dégradation certaine au niveau des réseaux
- 46,8% (29% en 2005) sont porteurs de germes pathogènes d'origine fécale probable 1,8% (5% en 2005)

d'*E. coli* et 37,2% (24,8% en 2005) de Streptocoques fécaux

- 7% (18,1% en 2005) avec des ASR marqueurs d'un défaut au niveau du traitement initial de l'eau.

Les eaux dans les industries agro-alimentaires présentent globalement une nette amélioration de la qualité par rapport aux années précédentes, 7,6% des échantillons sont non conformes (20% en 2005, 12,65% en 2004 et 17,5 % en 2003) avec toutefois des prévalences de non potabilité plus importantes :

- 41,1% (38,3% en 2005) des échantillons sont non conformes pour un défaut au niveau du traitement initial de l'eau (présence d'ASR)

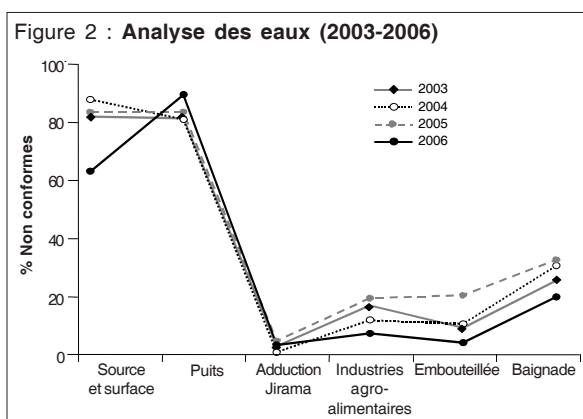
- 21,4% (19,4% en 2005) pour un problème fort probable au niveau du réseau

- 33,9% (14,4% en 2005) par la présence de germes pathogènes 14,3% (3,8% en 2005) d'*E. coli* et 23,2% (1,05% en 2005) de Streptocoques fécaux.

2,9% (5/172) échantillons de glace sont non conformes avec 2/5 par les flores pathogènes Coliformes thermotolérants et *E. coli* et 2/5 par les flores aérobies et ASR.

Les eaux embouteillées, 5% d'échantillons non conformes (21% en 2005 et 11,38% en 2004).

Il n'a pas été isolé de flore pathogène de la famille des Vibrionaceae pour l'ensemble des échantillons d'eaux analysés.



1.4 Analyses des produits pharmaceutiques

L'activité de contrôle des médicaments a cessé totalement avec la fermeture de la paillasse d'analyses des endotoxines bactériennes dans les solutés massifs suite à l'arrêt de la production nationale au début de l'année 2005.

1.5 Activité d'hygiène et qualité

Suite au départ de l'hygiéniste au mois de juin, il a été créé au laboratoire un poste de Conseiller Qualité en

Entreprises. Ce poste a été pourvu en décembre avec pour objectif de promouvoir et développer la prise en charge des activités liées à la qualité auprès des entreprises en agroalimentaire grâce à des audits qualité, des formations à l'hygiène et aux suivis des plans qualité de type HACCP appuyés par des analyses microbiologiques.

- Douze techniciens ou responsables de laboratoire d'autocontrôle en entreprises agroalimentaires ont suivi une formation aux techniques d'analyses avec interprétation des résultats.

- Deux établissements hôteliers de chaînes internationales ont fait appel aux services réguliers du laboratoire dans l'accompagnement et l'amélioration de la qualité en restauration.

- Une entreprise a mis en place son laboratoire d'autocontrôle grâce à notre soutien technique en terme d'audit, de conseil et de formation des techniciens.

2- Activités de santé publique

2.1 Contribution à l'amélioration de l'exploitation d'un abattoir bovin à Antananarivo

Etude réalisée avec le concours de Monsieur DH Rakotomavo, étudiant à l'Université Catholique Athénée St Joseph d'Antsirabe - filière Sciences Agricoles dans le cadre de son mémoire pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur.

Un abattoir constitue l'un des points critiques majeurs de l'hygiène des viandes et l'abattage est considéré comme l'étape où les plus grandes opportunités de contamination existent (Jouve, 1990). Cette étude a eu pour objectif de mettre en place un système d'analyses des dangers et des risques ainsi que des mesures permettant de les prévenir. Cette démarche de maîtrise de la qualité de type HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) au sein d'un abattoir avait pour but de réduire les contaminations microbiologiques des carcasses bovines. Une tuerie située dans la ville d'Antananarivo considérée comme abattoir a été prise en modèle pour cette étude. Ce système HACCP est essentiellement basé sur le respect des règles d'hygiène au niveau des locaux, des personnes et des matériels utilisés. Des améliorations majeures ont été constatées tout au long de la mise en place du système avec notamment la disparition des germes pathogènes (Salmonelles) et la quasi disparition des coliformes thermotolérants à 44°C et des Anaérobies sulfite réducteurs marqueurs de l'état de fraî-

cheur de la viande ainsi que des conditions d'hygiène à l'abattage. Une diminution sensible des flores aérobies mésophiles résulte de la maîtrise des conditions environnementales de l'abattoir.

2.2 Etude de la fréquence de portage, du niveau de contamination et de la résistance aux antibiotiques des flores pathogènes et des flores contaminantes présentes sur les poulets de chair au stade de l'abattage dans 11 villes situées sur 4 continents, à Cayenne et en Nouvelle Calédonie

Etude réalisée avec le concours de Monsieur MA Ramanoelina, étudiant en DEA à la faculté des Sciences d'Antananarivo - Département de Biochimie Fondamentale et Appliquée.

Cette étude multicentrique initiée par le Groupe d'Etude "Salubrité Alimentaire" du réseau International des Institut Pasteur dans le cadre d'une ACIP a eu pour objectifs d'évaluer la contamination bactérienne des poulets au moment de l'abattage en vue, tout d'abord, d'une intégration dans un modèle d'évaluation de l'exposition de la population puis dans un second temps, d'évaluer la fréquence des résistances bactériennes aux antibiotiques des souches isolées dans ce cadre.

Une enquête de terrain a permis d'identifier les différents types d'abattages existant dans la ville d'Antananarivo avec l'établissement d'un plan d'échantillonnage et du calendrier pour les prélèvements qui se sont étalés jusqu'au mois de septembre.

Sur les 150 poulets prélevés et analysés à partir d'une vingtaine d'abattoirs toutes catégories confondues (industriels, artisanaux, à domicile, sur les rues), il a été isolé 109 souches de *Campylobacter* (72,7% de portage), 150 souches d'*E. coli* (100% de portage) et 24 souches de *Salmonella* (16% de portage) aux sérotypes suivants Enteritidis 17, Bardo 4, Newport 1 et Lerum 1. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques de ces souches est prévue dans une seconde phase.

2.3 Evaluation de la qualité microbiologique des eaux d'alimentation du point de puisage au point de consommation dans deux quartiers de la ville d'Antananarivo

Etude réalisée avec le concours de Mlle MST Randrenjasoa, étudiante à l'Institut Supérieur Polytechnique de Madagascar pour l'obtention de son diplôme d'Ingénieur en industrie agro-alimentaire. Sont également associés à cette étude le Groupe de Recherche et d'Echange Technologique (GRET) pour les enquêtes de terrain et un Assistant Technique conseiller en Santé-Environnement auprès du service d'Assainissement et

du Génie Sanitaire (SAGS) du Ministère de la Santé et du planning familial.

Cette étude a eu pour objectif d'évaluer la qualité microbiologique des eaux réellement consommées en milieu urbain et d'apprécier la dégradation de la qualité des eaux d'alimentation du point de puisage au point de consommation. La zone d'étude ciblée est constituée de deux quartiers de la commune urbaine d'Antananarivo, Manjakaray II C et Andohatapenaka II. Une enquête de terrain réalisée antérieurement par le GRET a permis d'identifier les modes d'utilisation de l'eau par les familles de deux quartiers sélectionnés. 20% des ménages de chaque quartier furent tirés au sort selon un sondage élémentaire basé sur le taux fixé avec pour objectif de relever : la constitution de la famille, le point d'approvisionnement en eau de chaque ménage, les éventuelles mesures de traitement de l'eau et enfin la présence de diarrhée durant les deux semaines précédant l'enquête. 40% des familles enquêtées ont fait l'objet d'un prélèvement d'eau au domicile afin d'en apprécier la qualité bactériologique. Les ménages ont été tirés au sort

en tenant compte du nombre de personnes qui utilisent une même source d'eau. Les échantillons d'eaux ont fait l'objet d'une analyse avec des protocoles normalisés. L'enregistrement des résultats de l'enquête, des analyses bactériologiques et l'exploitation de tous ces résultats a été effectué avec le logiciel Epi info. Les résultats de cette enquête montrent que 43% des eaux prélevées au niveau des bornes fontaines publiques (92% des ménages), 50% des eaux au niveau des deux branchements privés (3,8% des ménages) et 100% des eaux de puits (2,8% des ménages) sont non potables ainsi que 100% des eaux prélevées au niveau des ménages eux mêmes. Une forte prédominance de non-conformité est due à la présence de Streptocoques fécaux (90%), de Coliformes totaux (86%), de Clostridium sulfito réducteurs (76,7%), de Coliformes fécaux (60.4%), d'*E. coli* (44,1%) et de Staphylocoques à coagulase positive (17%). Le mauvais état sanitaire de l'environnement des bornes fontaines, le mode de transport ainsi que le stockage de l'eau par les ménages sont les raisons majeures de la contamination de l'eau de consommation des ménages.

Centre International de Vaccination

R Ramiandrasoa

Ce service est à la disposition du public pour effectuer l'ensemble de vaccinations éventuellement recommandées à Madagascar ou exigées pour les voyages internationaux.

1- Vaccination internationale

1 378 vaccinations anti-amariles donnant suite à la délivrance d'un certificat de vaccination internationale ont été réalisées (vaccin utilisé : Stamaril®) soit une augmentation de 20% par rapport à l'année précédente.

2- Autres vaccins

7 462 doses de vaccins de différentes natures ont été administrées (plus 9% par rapport à l'année précédente). Par ailleurs, 621 IDR à la tuberculine ont été pratiquées.

Tableau I : Nombre des différents vaccins administrés

Nature du vaccin	Nombre de vaccinations	Pourcentage
Act Hib	794	10,64
Avaxim	203	2,72
Tetract hib	23	0,31
Imovax Polio	27	0,36
Genhevac B	760	10,18
Engerix B Adulte	135	1,81
Engerix B Enfant	79	1,06
Meningo A+C	178	2,38
Pentacoq	298	3,99
Pentaxim	198	2,65
Pneumo 23	72	0,96
ROR	590	7,90
Stamaril	1 378	18,46
Tetavax	102	1,37
Verorab	445	5,96
Dultavax	549	7,36
Tetracoq	8	0,11
Vaxigrip	1 625	21,77

Centre de Traitement Antirabique

W Rakotomalala, M Ratsitorahina

Données d'analyse du fichier du centre anti-rabique de l'IPM, année 2006

Données patients

Durant l'année 2006, 4 043 nouveaux consultants (prise en charge initiale) ont été enregistrés dans le fichier du centre antirabique de l'IPM, 118 personnes sont venues pour une reprise de traitement après abandon et 1 pour poursuite de traitement après transfert d'un autre centre antirabique.

L'année 2006 a été marquée par l'utilisation systématique du vaccin sur culture cellulaire (VERORAB®) selon le protocole Thaïlandais pour la prise en charge post exposition à Madagascar depuis le début du mois d'Avril. Ainsi le vaccin préparé sur souriceau n'a été utilisé qu'entre le 1er janvier et le 29 mars 2006.

Une analyse descriptive a été réalisée sur les 4 043 nouveaux consultants enregistrés.

Le sex-ratio H/F était égal à 1,14, l'âge moyen des patients de 24,1 ans avec un âge médian égal à 21 ans et des extrêmes de 1 an et 91 ans.

La majorité des patients habitaient dans le Grand Tana (Antananarivo Renivohitra, Atsimondrano, Avaradrano et Ambohidratrimo) ils représentaient 96,5% des patients exposés (3 903/4 043).

Parmi eux, 2299 (58,9%) venaient d'Antananarivo Renivohitra, 700 (17,9%) d'Antananarivo Atsimondrano, 469 (12,1%) d'Antananarivo Avaradrano, et 435 (11,1%) d'Ambohidratrimo. Les lieux d'exposition de la victime ne différaient que très exceptionnellement de leur arrondissement de résidence.

926 patients soit 22,9%, ont bénéficié d'une prise en charge avec vaccination par le vaccin préparé sur souriceau, 73,4% (2 955/4 043) ont été traités par le vaccin sur culture cellulaire Vero "Verorab®" selon le protocole Thaïlandais et 2,6% selon le protocole préconisé par l'OMS (injection intramusculaire). La mise en œuvre initiale du traitement avec une sérothérapie a été réalisée chez 40 sujets soit dans 0,9% des cas (40/4 043) (tableau I).

Tableau I : Répartition des patients selon le type de traitement et l'application de sérothérapie au début de la prise en charge (Données centre antirabique IPM, 2006)

Sérothérapie	Vaccin souriceau	Vaccin sur culture cellulaire		Total patients traités
		Thaïlandais	OMS	
Oui	25	8	7	40
Non	901	2 937	98	3 936
Total	926	2 945	105	3 976

Dans 1% des cas (42/4 043), les conclusions de la consultation n'ont pas justifié de mise en œuvre de traitement antirabique.

Données animales

Le chien est nettement prédominant et représente 91,7% (3 707/4 043) des espèces animales connues responsables de l'exposition. Les autres principales espèces animales sont par ordre décroissant le chat dans 5,4% des cas, le rat dans 1,8% des cas, le lémurien dans 0,7% des cas.

Le tableau II présente une caractérisation des animaux selon les déclarations des patients.

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	Total
Errant disparu	656	40	23	719
Errant vivant (propriétaire inconnu)	159	5	0	164
Domestique (propriétaire connu)	2 559	131	7	2 697
Domestique disparu	11	10	0	21
Domestique abattu	154	8	0	162
Domestique mort "de maladie"	168	24	0	192
Total	3 707	218	30	3 955 *

* 88 patients sont exposés à d'autres espèces que le chien, chat ou lémurien

Discussions et suggestions

Une étude sur la démographie canine et une autre sur l'estimation de la couverture vaccinale des chiens à Madagascar ou dans la ville d'Antananarivo, seraient intéressantes pour améliorer la lutte contre la rage à Madagascar ou à Antananarivo.

La participation des sujets exposés pour observer le devenir de l'animal mordeur pendant les 10 jours après l'exposition sera bénéfique pour les centres de vaccination.

La mise en place des 12 centres de vaccination en dehors de l'IPM depuis 2007, nécessite des suivis et évaluations de leur fonctionnement.

L'utilisation de la sérothérapie selon la recommandation de l'OMS, mérite une réflexion pour certaines catégories d'exposition.

Laboratoire Central de la Peste

Unité de production de bandelettes

IPM : M Rajerison, V Andrianaivoarimanana, C Raharimanana, M Ranjalahy, L Rahalison

Laboratoire Central de la Peste : ML Ralimanantsoa, M Ratsimba, N Randriananja, LA Ralafiarisoa

Centre de Biologie Clinique : F Randrianirina, JF Carod

IPP : F Nato, S Darteville, Y Germani

OMS : E Bertherat

Sources de Financement : Appui au fonctionnement du Laboratoire Central de la Peste par la Banque Mondiale pour le Ministère de la Santé et du Planning Familial malagasy, OMS TSA, IPP projet PTR et ACIP.

Le développement des activités de recherches et de santé publique sur les tests de diagnostic rapides 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 immunochromatographiques. Elle sert aujourd'hui à produire des bandelettes de tout types, à des fins de santé publique ou de recherche.

Sous la supervision du chef d'Unité, cette Unité de Production de bandelettes est tenue par un ingénieur ayant un profil de scientifique (depuis octobre 2005).

Des activités de production de bandelettes peste et dysenteries ont été menées en 2006.

Production de bandelette peste (tableau)

Production - Diffusion - Consommation de bandelettes antigène F1 peste, kits de prélèvement, malettes, guides et affiches

	2004	2005	2006
Production bandelettes	5 000	4 000	4 300
Diffusion/Consommation bandelettes Madagascar	2 324	1 366	1 604
Diffusion/Consommation bandelettes extérieur	625	800	605
Consommation bandelettes LCP	2 535	930	2 682
Kit de prélèvement / transport distribués	4 045	1 734	1 896
Malettes (Madagascar et extérieur)	113	8	62
Guides	113	37	65
Affiches	113	18	63

Afin d'assurer un stock permanent, l'IPM a produit des bandelettes peste :

- en appui au diagnostic de routine de la peste au Laboratoire Central de la Peste (LCP) du Ministère de la santé à Madagascar

- en appui au diagnostic au chevet du malade au

niveau des Centres de Santé de Base (CSB) foyers de peste à Madagascar

- pour les demandes internationales
- à des fins de recherches.

Production de bandelettes dysenteries

Dans le cadre du projet coordonné par l'IPP de mise au point et évaluation de bandelettes de détection d'antigènes de germes responsables de dysenteries et colites hémorragiques, le transfert de technique de l'IPP vers l'IPM de réalisation de bandelettes détectant *Shigella dysenteriae* 1 et *Shigella flexneri* 2a a été effectué en 2006. Pour une évaluation multicentrique de ces bandelettes, l'unité de production de bandelette de l'Unité Peste a produit 4 000 bandelettes (2 000 de chaque type) et effectué les tests de stabilité de ces bandelettes en 2006. La bandelette de détection d'*Entamoeba histolitica* dans le cadre de ce projet est en cours d'optimisation.

Conclusion et perspectives

Nous confirmons la pertinence de la disponibilité à l'IPM du plateau technique sur les 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 (personnel, locaux adaptés, maintenance appareil et dédoublement des appareils, système de montage) ainsi qu'une formation complémentaire sur l'assurance qualité de la chaîne de production des tests seraient appréciables.

Toutes ces améliorations bénéficieraient à l'Unité de production qui est destinée à s'orienter vers le développement de tests pour d'autres pathologies.

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 est fidèle à cette mission et ses scientifiques sont très souvent sollicités.

A Madagascar, la formation concerne les propres personnels de l'Institut mais surtout l'enseignement et l'accueil en stages de personnels extérieurs. Mention particulière est faite pour des chercheurs d'un Institut membre du Réseau International des Instituts Pasteur, dont la mobilité, initiée pour permettre les échanges d'expériences et le développement de collaborations, s'est concrétisée tant par l'accueil à l'IPM de scientifiques étrangers que par le départ de scientifiques malgaches vers d'autres instituts.

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 et du Plannig Familial.

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.

Formations

1- Formation continue d'agents de l'IPM

1.1 A Madagascar

- **Raharisolo Vololonantenaina C** : Formation FCBM sur la cytologie, Antananarivo (21 janvier). Organisateur : CROM/CUA; financement : CROM/CUA.

- **Andrianaivoarimanana V, Ralimanantsoa ML, Razanakoto L** : Recherche documentaire sur Internet, Antananarivo (18 avril). Organisateur : IPM; financement : IPM.

- **Randriarimanga B, Razafindrambola H, Razafintsoa N, Rajerison F, Andrianaivoarimanana V, Ralimanantsoa ML, Ranjalahy M, Razanakoto L, Raveloniaina D** : Initiation aux logiciels : SIG, Access, Excel, Antananarivo (18-20 avril). Organisateur : CFE; financement : IPM.

- **Carod JF, Randrianirina F, Ratsima EH, Raharisolo Vololonantenaina C, Rakotondrazaka M, Rahalison L, Rahelinirina S, Andriamandimby SF** : Mise au point PCR qualitative et d'une confirmation (RFLP, hybridation, séquençage, Antananarivo (15 au 27 mai). Organisateur : CIRAD/IPM; financement : IPM.

- **Randriarimanga B, Razafindrambola H, Razafintsoa N, Rajerison F** : Initiation sur les techniques de création de page web dynamique au format PHP, Antananarivo (juin-août). Organisateur : IPM; financement : IPM.

- **Randriananja Noro, Ratsimba Mamy, Razanakoto Léa**. Manipulation et entretien d'un microscope à l'IPM, Antananarivo (3-4 juillet). Organisation : NIKON; financement : IPM.

- **Raharisolo Vololonantenaina C, Rason MA, Raharimalala L, Ravoniarimbina P, Ravaonindrina N, Ravaoalimalala V, Ranaivosoa LH, Rakotomanana F, Raveloariseheno D, Ramiandrasoa R, Rakotonanahary N, Randrianirina F, Rakotomalala W, Rendremanana RV, Raharimanga V, Ralimanantsoa ML, Rabekotonirina V, Ratsima EH** : Formation sur la Classification Internationale des Maladies, 9^{ème} version, Antananarivo (20 juillet-25 août). Organisateurs : CROM/UNICEF/INSTAT/CUA; financement : CROM/CUA.

- **Razanakoto L, Razainirina JE** : Formation en biologie moléculaire (outils moléculaires et recherche de diversité génétique des espèces), FOFIFA Antananarivo (13-25 novembre). Organisation : CIRAD Montpellier; financement : IPM.

- **Carod JF, Chrétien JB, Rakotondrazaka M, Razanakoto L** : Initiation à la bio-informatique : recherche de séquences d'un gène sur Internet, recherche de séquence codantes et détermination des séquences d'amorces et de sondes correspondantes à un gène, notion d'alignement, utilisation BLAST, CLUSTAL, EPRIMER3, Antananarivo (20 novembre au 1er décembre). Organisateur : FOFIFA/CIRAD; financement : IPM.

- **Randrianirina F, Rahalison L, Rajerison M, Ralimanantsoa ML, Rasolofy V, Rakoto Andrianarivelo M, Raoalimalala VE, Ravoniarimbina P, Ratovonjato J, Ramalahanoharana H, Rabarijaona LP, Ravaonindrina N** : Management et leadership, Antananarivo (décembre). Organisateur INSCAE/IPM; financement : IPM.

- **Ralimanantsoa ML, Rajerison M, Rahelinirina S, Ralafiarisoa L, Ratsimba M, Raharimanana C, Randriananja N, Ranjalahy M, Andriambolamaro P, Razanakoto L**. Initiation en informatique (Windows XP, Word et Excel) par MICROTEC, Antananarivo (1 après-midi par semaine à partir du 16 décembre). Organisation : IPM; financement : IPM.

1.2 A l'extérieur de Madagascar

- **Gouali M** : Cours international de microbiologie et maîtrise de la sécurité alimentaire : maîtrise et contrôle du lait et produits laitiers, Lille (mai-juin). Organisateur : DAI; financement : DAI/IPM.

- **Andriamandimby SF** : Atelier sur le diagnostic des fièvres hémorragiques virales, Dakar (mai-juin). Organisateur : Institut Pasteur de Dakar; financement : IPM.

- **Raharisolo Vololonantenaina C** : Génotypage de HPV, Belgique (10-15 septembre). Organisateur BAI/Unité de virologie moléculaire; financement : BAI.

- **Randrianirina F, Ratsima EH** : Du phénotype au génotype, Maroc (novembre). Organisateur RIIP/IP Maroc; financement : IPM.

- **Tam Teon YL** : Cours HACCP, Lille (novembre). Organisateur : MAE; financement : MAE/Ambassade de France.

- **Andriamamonjy SN, Rakoto Andrianarivelo M** : Atelier sur les techniques OMS de différenciation intratypique du poliovirus (RT-PCR et ELISA), Uganda Virus Research Institute, Entebbe (novembre). Organisateur : OMS; financement : OMS.

- **Rasolonavalona T** : Stage de Master 2. *Gestion des risques liés à l'environnement, hors infrastructures et équipements : auto-évaluation du critère 18 d du manuel d'accréditation des établissements de santé, deuxième procédure de certification HAS*. Université de Tours.

- **Andrianaivoarimanana V** : Stage de Master 2. *Réponse anticorps et prolifération de cellules T après stimulation par l'antigène F1 au cours et décours de l'infection pesteuse chez des sujets malgaches*. Faculté des Sciences, Université de Versailles St Quentin.

2- Formations ou stages en cours à l'IPM

2.1 Thèses de sciences

- **Amadou A**. Les techniques de production de tests rapides immuno-chromatographiques pour les méningites.

- **Andriantsoanirina V** : Doctorat 3^{ème} cycle. Unité Paludisme. *Apport des nouveaux outils de biologie moléculaire dans l'évaluation et la surveillance de la résistance de P. falciparum aux principaux antipaludiques utilisés à Madagascar*". Faculté des Sciences, Université de Paris 13 et Université d'Antananarivo.

- **Barnadas C** : Doctorat 3^{ème} cycle. Unité Paludisme. *Epidémiologie moléculaire et résistances de Plasmodium vivax aux antipaludiques à Madagascar*. Institut des Sciences Pharmaceutique et Biologique, ISPB Lyon.

- **Buffier S** : Etudiant en Sciences et Technologies, mention Biochimie. Unité de Virologie. Université Claude Bernard, Lyon 1.

- **Crespy M** : Doctorat 5^{ème} cycle. Unité Paludisme. *Evaluation de l'efficacité thérapeutique de la*

chloroquine dans le traitement de l'accès palustre simple à Plasmodium vivax à Madagascar. Université de Toulouse.

- **Jeanmaire E** : Doctorat vétérinaire. Unité de Virologie. *Lyssavirus et chauves-souris*. Institut des Sciences Pharmaceutique et Biologique, ISPB Lyon.

- **Morin L** : Doctorat 5^{ème} cycle. Unité Paludisme. *Evaluation de l'activité antiplasmodiale de plantes malgaches amères de la famille des Gentianaceae et des Meliaceae*. Institut des Sciences Pharmaceutique et Biologique, ISPB Lyon.

- **Rabe O** : Doctorat 3^{ème} cycle. Unité des Mycobactéries. *Mycobactéries du réseau de canalisation urbaine : impact biologique, et essai thérapeutique à base de substance naturelle malgache*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Rahelinirina S** : Doctorat 3^{ème} cycle. Unité Peste. *Suivi des déplacements de réservoirs - structuration génétique des populations et risque pesteux en zone d'endémie à Madagascar*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Razafindratsimandresy R**. Doctorat 4^{ème} cycle. Unité de Virologie. *Etude phylogénétique des virus à ARN isolés à Madagascar (VIH, VHC)*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Razakandrainibe HTR** : Unité Paludisme. *La réponse humorale dirigée contre le P. falciparum*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Rakotosamimanana N** : Doctorat 3^{ème} cycle. Unité des Mycobactéries. *Recherche de marqueurs immunologiques et génétiques de protection contre la tuberculose*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo et Université Paris VI.

- **Saïd Tohir AHO** : Doctorat 3^{ème} cycle. Unité des Mycobactéries. *Amélioration du diagnostic de la tuberculose*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

2.2 DEA

- **Andriamihantsoa L** : Unité des Mycobactéries. *Mise au point et application de la RT-PCR à l'étude de l'expression de gènes de l'apoptose liés à l'immunité anti-tuberculeuse*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Rabemiarana J** : Unité des Mycobactéries. *Génotypage des souches de Mycobacterium tuberculosis*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Raharinosy V** : Unité Paludisme. *Mise au point de la technique Real Time PCR adaptée au génotypage pfCRT 76 de Plasmodium*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Rakotonirina H**. Unité Paludisme. *Performances et limites des méthodes de diagnostic du paludisme à Madagascar*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Ramanoelina MA** : LHAE. *Etude de la fréquence de portage, du niveau de contamination et de la résistance aux antibiotiques des flores pathogènes et des flores contaminantes présentes sur les poulets de chair au stade de l'abattage dans 11 villes situées sur 4 continents, à Cayenne et en Nouvelle Calédonie*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Razanakoto L** : Unité Peste. *Evaluation d'une PCR en temps réel pour le diagnostic de la peste*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

2.3 Médecine

- **Andriamahazo LP**. Unité Paludisme. *Etude comparative randomisée de l'efficacité thérapeutique de la chloroquine, de l'amodiaquine, de l'association sulfadoxine-pyriméthamine et de la combinaison artésunate-amodiaquine dans le traitement du paludisme simple à Plasmodium falciparum à Ejeda*. Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Faniriko M**. Unité Paludisme. *Implications de la pression médicamenteuse et des migrations humaines dans la résistance des souches de Plasmodium falciparum à Madagascar*. Faculté de Médecine, Université de Mahajanga.

- **Harimanana Andrianina RN**. Unité Paludisme. *Comparaison de l'efficacité thérapeutique de 2 traitements antipaludiques combinés dans le traitement du paludisme simple à Plasmodium falciparum à Madagascar*. Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Herindrainy P**. Unité Paludisme. *Estimation du poids du paludisme à Madagascar*. Faculté de Médecine, Université de Mahajanga.

- **Rakotonaivo MJ**. Unité Paludisme. *Etude comparative randomisée de l'efficacité thérapeutique de la chloroquine, de l'amodiaquine, de l'association sulfadoxine-pyriméthamine et de la combinaison artésunate-amodiaquine dans le traitement du paludisme simple à Plasmodium falciparum à Miandrivazo*. Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Ramiandrasoa AZ**. Unité Paludisme. *Etude comparative randomisée de l'efficacité thérapeutique de la chloroquine, de l'amodiaquine, de l'association sulfadoxine-pyriméthamine et de la combinaison artésunate-amodiaquine dans le traitement du paludisme simple à Plasmodium falciparum à Moramanga*. Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Ramalanjaona L**. Unité Paludisme. *Caractéristiques épidémiologiques du paludisme dans la ville d'Antananarivo*. Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Randriamboavonjy J**. Unité Paludisme. *Etude comparative randomisée de l'efficacité thérapeutique de la chloroquine, de l'amodiaquine, de l'association sulfadoxine-pyriméthamine et de la combinaison artésunate-amodiaquine dans le traitement du paludisme simple à Plasmodium falciparum à Maevatanana*. Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Velo Jasmin JB**. Unité Paludisme. *Etude comparative randomisée de l'efficacité thérapeutique de la chloroquine, de l'amodiaquine, de l'association sulfadoxine-pyriméthamine et de la combinaison artésunate-amodiaquine dans le traitement du paludisme simple à Plasmodium falciparum à Ihosy*. Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

2.4 DES

- **Rakotoarivelo RA**. Unité Paludisme. *Mémoire de Diplôme d'Etude en Formation Spécialisée (DEFS) en Médecine Interne. Paludisme en milieu hospitalier observé au Centre Hospitalier Universitaire d'Antananarivo*. Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Rakotoarivony M**. Unité Paludisme. *Le paludisme dans la commune urbaine d'Antsiranana*. Institut National de Santé Publique et Communautaire.

- **Ralemary N.** Unité Paludisme. Mémoire de fin d'étude de planification. *Lutte contre le paludisme dans le district de Manja de 1995 à 2010.* Institut Malgache des Techniques de Planification.

- **Randrianarivo-Solofoniaina AE.** Unité Paludisme. *Evaluation du risque d'importation des souches de Plasmodium résistantes aux antipaludiques des Comores à Madagascar.* Institut National de Santé Publique et Communautaire.

2.5 Stages techniques et professionnels

- **Meetoo G, Lucas F, Ibrahim M, Rajaonatahina D, Rahelisoa G :** Laboratoire Central de la Bilharziose. *Prise en charge au laboratoire des patients vivants avec le VIH/SIDA.* Organisateur : Coopération française; financement : Coopération française.

- **Raharisoa I :** Laboratoire Central de la Bilharziose. *Diagnostic de schistosomes et des géohelminthes.* Organisateur : Ministère de la Santé et du Planning Familial; financement : IPM.

- **Rakotomavo DH :** LHAE. *Contribution à l'amélioration de l'exploitation d'un abattoir à bovin à Antananarivo.* Organisateur : Athénée St Joseph Antsirabe; financement : Athénée St Joseph Antsirabe.

- **Randrenjasa MST :** LHAE. *Evaluation de la qualité microbiologique des eaux d'alimentation du point de puisage au point de consommation dans deux quartiers de la ville d'Antananarivo.* Organisateur : Institut Supérieur Polytechnique de Madagascar (ISPM); financement : GRET/SAGS/ISPM.

- **24 étudiants en 4ème année de médecine :** Laboratoire Central de la Bilharziose. Stage pratique sur la connaissance des schistosomes et les méthodes de diagnostic. Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **3 élèves du Collège de France d'Ambohitovo et 6 du Lycée Français d'Androhibe :** Laboratoire Central de la Bilharziose. Séquence d'observation en milieu professionnel.

Enseignements

Les cadres scientifiques de l'IPM participent activement aux enseignements théoriques et pratiques donnés dans le cadre de plusieurs enseignements :

1- Atelier Paludisme

(<http://www.pasteur.mg/Atelier-Palu/>)

Organisé par le Groupe de Recherche sur le Paludisme
Coordination : O Domarle

L'Atelier Paludisme de l'Institut Pasteur de Madagascar est une formation originale, utilisant des concepts innovants de formation pour répondre au mieux aux besoins des professionnels de la santé en charge de la lutte contre le paludisme dans les pays d'endémie. Les objectifs sont de renforcer les capacités d'experts dans la lutte contre le paludisme (connaissance pluridisciplinaire, démarche critique, assurance des acquis, prise de position), de renforcer les capacités de gestion de cycle de projet et de pallier les problèmes liés à l'isolement géographique avec l'utilisation d'internet comme source documentaire. L'atelier se déroule à temps plein pendant six semaines consécutives, avec une session annuelle depuis 2003. Soixante chercheurs, médecins ou agents du Ministère de la Santé ont bénéficié de cette formation, soit une quinzaine par an. La formation fait appel à des concepts d'andragogie (relation apprenant/facilitateur pour promouvoir les échanges plutôt que la transmission des connaissances) et d'apprentissage par problème mettant les apprenants dans une démarche d'exploration active de l'information. Ce concept de formation, couplé à la diversité des origines et des expériences de chacun, crée une dynamique positive, comme le montrent les évaluations hebdomadaires au cours de l'atelier. Le suivi des anciens apprenants montre une évolution de leurs activités professionnelles avec une implication dans l'élaboration de programmes et l'obtention de financements. Un réseau se crée et certains des apprenants exercent un transfert de leur expérience. L'Atelier Paludisme de l'IPM propose une formation novatrice dans son concept de formation pragmatique, qui montre un excellent impact et qui peut être appliqué à d'autres thématiques. Un article est en préparation (une version française et une version anglaise) pour présenter le concept de la formation et les conclusions qui peuvent en être tirées.

2- Internat Qualifiant en Biologie Médicale

4 internes en médecine suivent à tour de rôle une formation dans les disciplines pratiquées au Centre de

Biologie Clinique avec une formation complémentaire dans différents services de recherche auxquels nous sommes reliés (Paludisme, Virologie, Parasitologie, ...).

Ils se répartissent dans toutes les spécialités du CBC en suivant le planning organisé par la Faculté de médecine d'Antanarivo pour des périodes allant de 2 à 4 mois selon la spécialité.

Mise en place en 2006, des "Staff du Vendredi" avec confrontation de cas cliniques orchestrées par un biologiste. L'accent est mis sur l'interprétation, le raisonnement et l'esprit critique dans l'analyse des résultats biologiques et les "conduites à tenir devant différentes situations".

Sur le plan pratique, un biologiste est systématiquement présent à la paillasse et contribue ainsi directement à la formation pratique des internes.

3- Formation continue des techniciens du CBC

La formation est basée sur une méthode interactive par présentation de cas clinico-biologiques, la partie pré-analytique est renforcée et une démarche critique face aux méthodes et aux résultats est sollicitée. Les cours, sauf exceptions, sont réalisés par les techniciens pour les techniciens à raison d'une séance tous les 15 jours. Chaque intervenant bénéficie de l'appui systématique d'un biologiste. L'accent cette année a notamment été mis sur l'antibiorésistance ("les prem's").

Comme pour les internes en biologie médicale, l'objectif de cette formation est multiple :

- rafraîchir et mettre à jour les connaissances sur une thématique donnée
- former à la recherche des informations pertinentes
- former à la maîtrise d'internet : moteurs de recherche, banques d'images, banques de données médicales
- familiariser et développer l'expression orale
- manier les outils informatiques et infographiques
- développer son esprit critique en technique d'analyses biologiques
- savoir manier le concept de l'interactivité.

Stagiaires divers

Le laboratoire accueille des stagiaires qui en font la demande auprès de la direction de l'IPM. En raison des nombreuses demandes, sont accueillis préférentiellement les stagiaires qui effectuent un stage dans un cadre scolaire ou universitaire.

4- Formation initiale de techniciens biologistes

Ecole de techniciens de laboratoire de Madagascar

La participation du CBC consiste à réaliser les commandes de matériel et réactifs pour l'école des techniciens. Le CBC a aussi un appui pédagogique : en fournissant les échantillons à la base de Travaux Pratiques de microscopies et de culture bactériologique mais aussi il a réalisé un CD-ROM éducatif de microscopie utile pour les séances de révisions. Enfin, le CBC a organisé et encadré des TP de mycologie, bactériologie et organisé au sein de l'IPM des séances de révisions avant l'évaluation finale. Le chef de service a été impliqué dans la notation finale après la mise en situation professionnelle sur site. Depuis fin 2006, le CBC accueille en continu les élèves techniciens de laboratoire, au même titre que les internes en biologie médicales, comme stagiaires en continue par tronçons de 5 semaines. Le CBC s'inscrit pour la 1^{ère} fois ainsi comme 3^{ème} site de stage permanent sur la capitale pour les étudiants en 2^{ème} année.

Organisation de concours de recrutement de techniciens de Laboratoire

Le Dr JF Carod a été sollicité pour organiser deux séances de recrutement de techniciens de laboratoires pour des postes à pourvoir au sein de l'IPM associant une épreuve écrite et orale d'admissibilité et une épreuve pratique d'admission.

Cours URSIDA

- Mycobactéries : *Rasolofo V, Ramarokoto H*
- Virologie : *Reynes JM*
- CBC : *Carod JF, Randrianirina F, Ratsima E, Thonier V*

Le cours a été organisé avec la précieuse collaboration du Dr V Thonier, VIE, par l'Institut Pasteur de Madagascar sur proposition et avec le soutien de la Coopération Française dans le cadre du projet URSIDA (AMP). Il s'est adressé en priorité aux techniciens supérieurs de laboratoire ou médecin et pharmaciens biologistes, dont l'activité est orientée vers la pratique hospitalière et la prise en charge de patients vivant avec le VIH/SIDA.

Ce cours régional de la zone de l'Océan Indien sur la "Prise en charge au laboratoire des patients vivants avec le VIH/SIDA" a accueilli 5 stagiaires du vendredi 21 au samedi 29 avril, les deux samedis inclus étant travaillés soit une durée d'enseignement de 8 jours ouvrables.

La formation s'est composée :

- d'une partie théorique avec des cours magistraux sous forme de présentation Power Point, le petit effectif

des candidats permettant une forte interactivité,

- d'un enseignement pratique sous forme de travaux dirigés (notamment pour la rédaction de procédure pour la mise en pratique des notions d'assurance qualité) et de travaux pratiques permettant aux candidats de manipuler les différentes techniques qu'ils pourront développer dans leurs laboratoires respectifs,

- d'un complément de cours afin d'élargir les sujets abordés sous forme d'exposés réalisés par le technicien lui-même avec l'aide d'un biologiste pour l'encadrement.

Les différents enseignements ont été réalisés dans différents laboratoires de l'IPM et par différents intervenants afin que la qualité de l'information délivrée soit optimum.

Cours FORMA/IPM : de la mise au point du PCR à la lecture interprétative

- IPP : *Bouchier C, Ekoua MT*
- UFR : *Fandeur T*
- IPM : *Carod JF, Ménard D*

Objectifs

Principal : après une situation théorique concise et pratique de la méthode PCR : du principe, des avantages et limites, l'ensemble des modules seront envisagés dans le seul but de mettre au point une technique PCR à partir d'un projet concret (ex : mise au point d'une technique de détection des gènes de résistance aux anti-rétroviraux, gène HRP2 paludisme, cysticerdose...).

Secondaire : améliorer les connaissances des techniques de Biologie moléculaire applicables au diagnostic ou à la recherche :

- mise au point d'une PCR qualitative et d'une confirmation (RFLP, hybridation, séquençage...)
- mise au point d'une PCR quantitative et autres techniques dérivées
- initiation à la bioinformatique : notion d'alignement, utilisation BLAST, CLUSTAL, EPRIMER3,...

Méthodologie

Enseignement essentiellement basé sur des mises en situation pratique avec le strict minimum de théorie nécessaire à la compréhension de ce qui sera fait par la suite. L'application à un projet concret de l'IPM est très fortement souhaitable. Ce projet servira d'exemple et sera suivi du début à la fin avec les différentes étapes de son développement. La théorie sera abordée de façon succincte et imagée (environ 1 heure) avant la mise en situation. L'originalité de la pédagogie utilisée dans ce cours tient donc directement à l'importance donnée à la construction d'une PCR et à l'utilisation de la lecture critique et interprétative des résultats obtenus (simulations). Les documents du cours devront

permettre à l'apprenant d'appliquer par la suite ce schéma logique à une modélisation dans son unité. Il est préconisé d'utiliser par exemple des copies d'écrans expliquées afin de donner à l'apprenant un document de cours valant pour mode opératoire des plus fonctionnels par la suite.

Qualité dans la pédagogie

2006 a vu également l'application de la qualité dans les formations et l'encadrement offert par le CBC à savoir :

- évaluation de l'étudiant et des stagiaires par une grille normalisée de l'IPM
- évaluation du tuteur ou lieu de stage par l'étudiant/le stagiaire
- évaluation des biologistes ou techniciens en tant qu'encadreurs.

5- Rencontres clinico-Biologiques

A l'initiative du Dr JF Carod de l'PM et du Dr E Andrianasolo des confrères de Madagascar, des conférences ou rencontres clinico-biologiques ont été mises en place en 2005. Leur objectif est de réunir tous les professionnels de santé : médecins, pharmaciens, dentistes à l'occasion de rencontres portant sur des thèmes essentiels en pratique médicale et co-présentés par un ou deux médecins cliniciens et un ou deux biologistes. Les biologistes intervenants peuvent être issus de l'IPM aussi bien que de n'importe quelle structure publique ou privée.

Objectif

Ouvrir aux étudiants et professionnels de santé une formation originale, de qualité et gratuite, répondant aux soucis premiers en terme de pratique médicale.

Objectif indirect

Améliorer le diagnostic, éviter les demandes d'analyses aberrantes/injustifiées et les traitements mal appropriés par une méconnaissance d'un sujet ou d'une conduite à tenir.

Méthodologie

Les rencontres basent leur raison d'être sur une pédagogie très originale : apprentissage par étude de cas et mises en situation offrant deux volets : le volet clinique et le volet biologique, la réflexion de l'auditoire est continuellement sollicitée par des interrogations régulières sur une thématique suivant une approche très pratique et médicale d'un problème. Un document A4 avec l'essentiel pratique directement applicable est

distribué à l'arrivée de tout auditeur à la salle.

Résultats

De 100 à 150 professionnels assistent assidûment à ces rencontres qui se déroulent tous les deux mois à l'hôpital HJRA les vendredi à 16H.

Thèmes abordés	Mois Lieu	Biologistes (IPM)	Cliniciens
Les bonnes pratiques d'antibiothérapie	Février Antananarivo	Randrianirina F	Randria M, CHU
- Les bonnes pratiques d'antibiothérapie - Paludisme (diagnostic, thérapeutique)	Mars Mahajanga	Carod JF	Randria M, CHU
Dépistage et prise en charge du cancer du col	Avril Antananarivo	Raharisolo C	Rakotobe Andriamaro, Gynéco-obstétricien
Les bonnes pratiques d'antibiothérapie	Juin Antsirabe	Randrianirina F	Randria M, CHU
Neuroparasitoses : que faire en pratique	Juillet Antananarivo	Rajaofera T Randrianirina F Carod JF	Andriantseho M, neurologue, CHU Befelatanana
Fièvre typhoïde : quel diagnostic ? quel traitement ?	Octobre Antananarivo	Rakotomalala R	Randria M, CHU

6- Autres enseignements

- Cours sur les *Yersinia* dispensé aux étudiants de l'Internat Qualifiant en Biologie **par Rahalison L.**
- Cours de Microbiologie dispensé aux étudiants de l'Internat Qualifiant en Biologie (Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo) **par JF Carod, F Randrianirina, EH Ratsima.**
- Utilisation du test rapide peste à l'attention des participants extérieurs, lors de la réunion inter-régionale sur la prévention et le contrôle de la peste **par Rajerison M, Ralafiarisoa L, Ralimanantsoa ML.**
- Supervision formative sur l'utilisation du test rapide peste dans 23 SSD foyers de peste, à l'attention des agents de santé des foyers peste **par Ralimanantsoa ML, Rahalison L, Rajerison M, Ralafiarisoa ML, Andrianaivoarimanana V, Randriananja N, Raharimanana C.**
- Atelier de formation à la rédaction scientifique dans le cadre du projet du FSP "Forum de la Recherche à Madagascar" (SCAC – FORMA) **par Rahalison L.**
- Cours de génétique moléculaire pour l'Aptitude d'Etudes Approfondies de Biochimie Appliquée aux Sciences Médicales (Faculté des Sciences d'Antananarivo) **par Rasolofo Razanamparany V.**
- Cours de Virologie dispensé aux étudiants de la 3^{ème} année de la filière Vétérinaire (Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo) [les généralités sur le génie génétique] **par Rasolofo Razanamparany V.**
- Cours de Virologie dispensé aux étudiants de l'Internat Qualifiant en Biologie (Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo) **par Reynes JM, Rakoto Andrianarivelo M.**

Centre de Documentation Scientifique

- **B Randriarimanga** : documentaliste, responsable du service

1- Gestion documentaire

1.1 Fonds documentaire

Le fonds documentaire actuel comprend :

- . 3 400 ouvrages
- . 2 550 tirés à part
- . 3 600 thèses
- . 49 titres de périodiques (19 en abonnement et 30 en dons et échanges)
- . 47 vidéo films
- . 20 cassettes audio
- . 200 cartes

1.2 Bases de données bibliographiques

L'accès permanent au réseau Internet permet un accès à la base de données Medline (Interface Pubmed).

1.3 Journaux en ligne

3 sites principaux sont accessibles :

- AGORA de la FAO
- Hinari de l'OMS
- IP Paris (Information Scientifique)

Ces sites offrent des accès en ligne à plus de 2 000 journaux scientifiques, en texte intégral, spécialisés dans le domaine bio-médical. Ces accès sont disponibles aux personnels scientifiques connectés à Internet dans le campus de l'IPM.

1.4 Service aux utilisateurs

- 209 consultants extérieurs ont été enregistrés, ce qui correspond à 422 documents consultés.
- 91 actes de prêt interne ont été notifiés équivalant à 141 documents empruntés.
- 153 photocopies d'articles scientifiques ont été commandées en ligne sur le site de l'IP Paris.

2- Site internet de l'IPM

Outre une présentation riche et illustrée de l'histoire et de la physionomie actuelle de l'Institut, il présente les missions de recherche, de santé publique, de service et de formation et des données scientifiques. Par ailleurs, il propose un accès rapide aux services de l'Institut et une page détaillée de conseils aux voyageurs pour Madagascar.

Les liens suivant sont accessibles au niveau de la page d'accueil :

- consultation en ligne de l'Atlas évolutif du paludisme et de la peste

- information sur l'atelier paludisme 2005 et inscription 2006

- accès en ligne à la revue "Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar" sur 12 années

- accès en ligne aux résumés des conférences scientifiques de l'IPM.

Un projet d'évolution d'un format statique vers un format dynamique de la page sera mis en oeuvre. Pour cela, le personnel du Centre de documentation est en cours de formation sur les techniques de création de page web au format PHP.

3- Conférences scientifiques de l'IPM

Le cycle mensuel de conférences scientifiques a été poursuivi en 2006. Le programme préliminaire et les avis de conférences sont largement diffusés par liste de courrier électronique et l'assistance est régulièrement nombreuse.

Ces 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.

9 janvier :

- **Handschumacher P, Laffly D.** *Du terrain au satellite : facteurs et indicateurs environnementaux du risque pesteux .*

11 janvier :

- **Razanajatovo IM.** *Nouveau système à deux composants contribuant à la virulence et à l'intégrité de la paroi de Staphylococcus aureus : une piste pour de nouvelles thérapeutiques.*

18 avril :

- **Piémont Y.** *La leucocidine de Staphylococcus aureus : une nouvelle venue parmi les toxines staphylococciques.*

23 juin :

- **Amadou A.** *Portage asymptomatique du méningocoque de sérotype W135 à Niamey et sa*

relation avec l'immunité protectrice acquise.

28 juin :

• **Sansonetti P.** *Epidémiologie, clinique et prophylaxie des shigelloses.*

06 septembre :

• **Del Prete G.** *Human T-cell response to /M. tuberculosis / antigens candidatus for vaccination.*

04 octobre :

• **Randrianarivo Solofoniaina AE.** *Evaluation de la circulation des souches de P. falciparum mutantes entre les Comores et Madagascar.*

15 novembre :

• **Neyrolles O.** *Interactions de Mycobacterium tuberculosis avec les cellules de l'hôte.*

4- Atelier Paludisme de l'IPM

Dans le cadre de l'Atelier du Paludisme organisé par le Groupe de Recherche sur le Paludisme de l'IPM du 27 février au 07 avril, des conférences ont été présentées sur ce sujet. Elles ont été dispensées par des chercheurs de l'Institut et les intervenants extérieurs venus encadrer les étudiants. Des thèmes généraux et des sujets plus spécialisés ont été évoqués de manière à cadrer les grands axes de la recherche et de la lutte contre le paludisme. Ces conférences sont donc venues en appui à la formation dans le cadre de l'Atelier et ont été ouvertes au public au même titre que les conférences de l'Institut Pasteur.

• **02 mars : Domarle O**

La lutte contre le paludisme ou la lutte contre les paradoxes

• **03 mars : Raveloson A**

Les facteurs déterminant une politique nationale de lutte contre le paludisme

• **06 mars : Durand R**

La charge parasitaire dans le paludisme à *Plasmodium falciparum* : mesure et intérêt

• **08 mars : Picot S**

Vie et mort de *Plasmodium* : la place de l'apoptose au cours du cycle

• **09 mars : Danis M**

Médicaments antipaludiques : nouvelles bithérapies, stratégies de changement de traitement

• **13 mars : Domarle O**

Le paludisme, une affaire de famille...

• **14 mars : Pénali L**

Données actuelles sur la physiopathologie du paludisme à *Plasmodium falciparum*

• **15 mars : Doumbo OK**

Protection conférée par l'hémoglobine C contre les formes neurologiques du paludisme en Afrique

• **16 mars : Ménard D**

Paludisme à *Plasmodium vivax*

• **04 avril : Nosten F, Barennes H**

- Utilisation des dérivés de l'artémisinine pendant la grossesse

- Place de la quinine par voie intrarectale pour le traitement précoce du paludisme grave de l'enfant

• **05 avril : Barennes H, Plowe C**

- Part des fièvres non palustres en zone tropicale, l'exemple du Laos et du Niger

- Update of malaria vaccines (en français)

• **06 avril : Plowe C, Duchemin JB**

- Reemergence of chloroquine susceptible malaria in Malawi (en français)

- Distribution de MII long lasting à l'échelle nationale au Niger

5- Secrétariat scientifique

La production de documents assistée par ordinateur représente la quasi-totalité des tâches dévolues au secrétariat :

- rapport d'activités 2005

- posters, diapositives, transparents, programmes, invitations, ont été édités à l'occasion de diverses manifestations

- impressions, reproductions et reliures de divers documents des autres services

- mise à jour de la page Web du site internet de l'IPM.

**Publications, Communications,
Thèses-Mémoires, Missions scientifiques,
Ateliers, Conférences, Visiteurs**

Publications

Anatomie pathologique

- **Raharisolo Vololonantenaina CR, Soares JL, Rabarijaona LP, Combe P, Maucière P.** The epidemiology of cancer in Madagascar. Data from the Madagascar Pasteur Institute for the period September 1992 to December 2002. *Cancer in Africa. Edition : Institut national du Cancer (Inca), Paris, France. 2006 ; 15 : 295-303.*

Immunologie

- **Domarle O, Razakandrainibe R, Rakotomalala E, Jolivet L, Randremanana RV, Rakotomanana F, Ramarokoto CE, Soares JL, Ariey F.** Seroprevalence of malaria in inhabitants of the urban zone of Antananarivo, Madagascar. *Mal J* 2006; **5** : 106.
- **Robert V, Le Goff G, Andrianaivolambo L, Randimby FM, Domarle O, Randrianarivelosia M, Raharimanga V, Raveloson A, Ravaonjanahary C, Ariey F.** Moderate Transmission but High Prevalence of Malaria in Madagascar. *Intern J Parasitol* 2006; **36** : 1273-1281.

Maladies virales

- **Razafindratsimandresy R, Rajaonatahina D, Soares JL, Rousset D, Reynes JM.** High HIV type 1 subtype diversity and few drug resistance mutations among seropositive people detected during the 2005 second generation HIV surveillance in Madagascar. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2006; **22** : 595-597.
- **Schuffenecker I, Iteman I, Michault A, Murri S, Frangeul L, Vaney MC, Lavenir R, Pardigon N, Reynes JM, Pettinelli F, Biscornet L, Diancourt L, Michel S, Duquerroy S, Guigon G, Frenkiel MP, Brehin AC, Cubito N, Despres P, Kunst F, Rey FA, Zeller H, Brisse S.** Genome microevolution of chikungunya viruses causing the Indian Ocean outbreak. *PLoS Med* 2006; **3** : e263.

Mycobactéries

- **Brudey K, Driscoll JR, Rigouts L, Prodinger WM, Gori A, Al-Hajoj SAM, Allix C, Aristimuno L, Arora J, Baumanis V, Binder L, Cafrune P, Cataldi A, Cheong S, Diel R, Ellermeier C, JEvans JT, Fauville-Dufaux**

M, Ferdinand S, de Viedma DG, Garzelli C, Gazzola L, Gomes HM, Gutierrez MC, Hawkey P, van Helden PD, Kadival GV, BKreiswirth BN, Kremer K, Kubin M, Kulkarni SP, Liens B, Lillebaek T, Ly HM, Martin C, Martin C, Mokrousov I, Narvskaia O, Ngeow YF, Naumann L, Niemann S, Parwati I, Rahim MZ, Rasolof-Razanamparany V, Rasolonavalona T, Rossetti ML, Rusch-Gerdes S, Sajduda A, Samper S, Seth P, Shemyakin I, Singh UB, Somoskovi A, Skuce R, van Soolingen D, Streicher EM, Suffys PN, Tortoli E, Tracevska T, Vincent V, Victor TC, Warren R, Yap SF, Zaman K, Portaels F, Rastogi N, Sola C. *M. tuberculosis* complex genetic diversity : mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology. *BMC Microbiology* 2006; **6** : 23.

- **Rasolof Razanamparany V, Quirin R, Rapaoliarijaona A, Rakotoaritahina H, Vololonirina EJ, Rasolonavalona T, Ferdinand S, Sola C, Rastogi N, Ramarokoto H, Chanteau S.** Usefulness of restriction fragment length polymorphism and spoligotyping for epidemiological studies of *Mycobacterium bovis* in Madagascar : description of new genotypes. *Vet Microbiology*, 2006; **114** : 115-122.

Paludisme

- **Ariey F, Fandeur T, Durand R, Randrianarivelosia M, Jambou R, Legrand E, Ekala MT, Bouchier C, Cojean S, Duchemin JB, Robert V, Le Bras J, Mercereau-Puijalon O.** Invasion of Africa by a single pfrt allele of South East Asian type. *Malar J* 2006; **5** : 34.
- **Bencimon C, Belmonte O, Randrianarivelosia M, Grosjean P, Pfister P, Combe P.** Diagnostic du paludisme dans la ville d'Antananarivo : réflexion à partir des résultats à l'Institut Pasteur de Madagascar de 2001 à 2004. *Bull Soc Path Exot* 2006; **99** : 198-199.
- **Cot S, Matra R, Rabarijaona L, Robert V, Raharimalala L, Raveloson A, Ariey F.** Evidence of an urban, local transmission of malaria in Antananarivo, Madagascar. *Med Trop* 2006; **66** : 143-148.
- **Domarle O, Razakandrainibe R, Rakotomalala E, Jolivet L, Randremanana RV, Rakotomanana F, Ramarokoto CE, Soares JL, Ariey F.** Seroprevalence

of malaria in inhabitants of the urban zone of Antananarivo, Madagascar. *Malar J* 2006; **5** : 106.

- **Mulholland DA, Langlois A, Randrianarivojosia M, Derat E, Nuzillard JM.** The structural elucidation of a novel iridoid derivative from *Tachiadenus longiflorus* (Gentianaceae) using the LSD programme and quantum chemical computations. *Phytochem Anal* 2006; **17** : 87-90.
- **Mulholland DA, McFarland K, Randrianarivojosia M.** Sesquiterpenoid derivatives from *Cipadessa boiviniana* (Meliaceae). *Bioch Systematics Ecology* 2006; **34** : 365-369.
- **Rabarijaona LP, Arieu F, Matra R, Cot S, Raharimalala LA, Ranaivo LH, Le Bras J, Robert V, Randrianarivojosia M.** Low autochthonous urban malaria in Antananarivo (Madagascar). *Malar J* 2006; **5** : 27.
- **Rabarijaona LP, Rabe T, Ranaivo LH, Raharimalala LA, Rakotomanana F, Rakotondraibe EM, Ramarosandratana B, Rakotoson JD, Rakotonjanabelo LA, Tafangy PB.** Paludisme sur les Hautes Terres Centrales de Madagascar : stratégies de lutte. *Med Trop* 2006; **66** : 504-512.
- **Rakotomanana F, Rakotoniaina S, Rendremanana RV, Rasolomamonjy JA, Benie GB, Rakotondraompiana SA.** Amélioration de la classification d'image par la méthode contextuelle ICM : Application à la détection des gîtes larvaires potentiels du paludisme à Madagascar. *Teledetect* 2006 ; **6** : 23-34.
- **Randrianarivojosia M, Fidock DA, Belmonte O, Valderramos SG, Mercereau-Puijalon O, Arieu F.** First evidence of mutant pfcrt *Plasmodium falciparum* in Madagascar. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2006 ; **100** : 826-830.
- **Randrianarivojosia M, Langlois A, Mulholland DA.** Investigations of the Malagasy species *Tachiadenus longiflorus* Grisebach (Gentianaceae) : linking chemical

finding and traditional usage. *J Ethnopharmacol* 2006; **105** : 456-458.

- **Randrianaivojosia M.** Chloroquine à Madagascar : un point de vue sur le passé et le présent, et projection sur l'avenir. *Bull Acad Natl Arts Lett Sci* 2006; **83** : 189-194.
- **Ratsimbaoa A, Randrianarivojosia M, Millet P, Soarès JL, Rabarijaona L, Rakotoson B, Malvy D, Ménard D.** Use of pre-packaged chloroquine for the home of presumed malaria in Malagasy children. *Malar J* 2006 ; **14** : 79.
- **Robert V, Le Goff G, Andrianaivolambo L, Randimby FM, Domarle O, Randrianarivojosia M, Raharimanga V, Raveloson A, Ravaonjanahary C, Arieu F.** Moderate Transmission but High Prevalence of Malaria in Madagascar. *Intern J Parasitol* 2006; **36** : 1273-1281.

Peste

- **Chanteau S, Nato F.** Rapid diagnosis of outbreak prone bacterial diseases. *Med Mal Infect* 2005; **2** : S 100-102.
- **Duplantier JM, Duchemin JB, Chanteau S, Carniel E.** From the recent lessons of the Malagasy foci towards a global understanding of the factors involved in plague reemergence. *Vet Res* 2005; **36** : 437-453.
- **Migliani R, Chanteau S, Rahalison L, Ratsitorahina M, Boutin JP, Ratsifasoamanana L, Roux J.** Epidemiological trends for human plague in Madagascar during the second half of the 20th century : a survey of 20,900 notified cases. *Trop Med Intern Health* 2006; **11**: 1228-1237.
- **Organisation Mondiale de la Santé, Institut Pasteur de Madagascar.** Détecter et confirmer un cas de peste dans les délais les plus courts : le test de diagnostic rapide et son kit de prélèvement. [CD-ROM]. Genève : WHO/CDS/EPR 2006.

Sous presse

Bilharziose

- **Leutscher P, Pedersen M, Raharisolo C, Jensen JS, Hoffmann S, Lisse I, Ostrowski SR, Reimert CM, Maucière P, Ullum H.** Increased Prevalence of Leucocytes and Elevated Cytokine Levels in Ejaculates from *Schistosoma haematobium* Infected Individuals. *J Infect Dis.*

Mycobactéries

- **Ramarokoto H, Rasolonalona T, L Ratsimba, Andrianasolo D, Ratsitorahina M, Rasolofo Razanamparany V.** Evaluation du milieu liquide Bio FM (BIO-RAD) pour la culture rapide de *Mycobacterium tuberculosis* in Madagascar. *Int J Tuberc Lung Dis.*
- **Rivoire N, Ravololonandriana P, Rasolonalona T, Martin A, Portaels F, Ramarokoto H, Rasolofo Razanamparany V.** Evaluation of resazurin assay for detection of multidrug-resistance *Mycobacterium tuberculosis* in Madagascar. *Int J Tuberc Lung Dis.*

Paludisme

- **Rakotomanana F, Randremanana RV, Rabarijaona LP, Duchemin JB, Ratovonjato J, Arieu F, Rudant JP, Jeanne I.** Determining areas that require indoor insecticide spraying using Multi Criteria Evaluation, a decision-support tool for malaria vector control programmes in the Central Highlands of Madagascar. *Int J Health Geographics* 2007, 6 (1):2.
- **Ratsimbasoa A, Randriamanantena A, Raheinjafy R, Rasoarilalao N, Menard D.** Which malaria rapid test for Madagascar? Field and laboratory evaluation of three tests and expert microscopy of samples from suspected malaria patients in Madagascar. *Am J Trop Hyg* 2007; 76 (3).
- **Rason MA, Andrianantenaina HB, Arieu F, Raveloson**

A, Domarle O, Randrianarivelosia M. Prevalent pfmdr1 N86Y mutant *plasmodium falciparum* in Madagascar despite absence of pfert mutant strains. *Amer J Trop Med Hygiene.*

- **Ratsimbasoa A, Randriamanantena A, Raheinjafy R, Rasoarilalao N, Menard D.** Which malaria rapid test for Madagascar? Field and laboratory evaluation of three tests and expert microscopy of samples from suspected malaria patients in Madagascar. *Am J Trop Hyg* 2007; 76 (3).

Peste

- **Prentice M, Rahalison L.** Plague. *Lancet.*
- **Stenseth NC, Aikimbayev A, Atshabar BB, Begon M, Belmain SR, Bertherat E, Carniel E, Gage KL, Leirs H, Rahalison L.** Plague : past, present and future. *PLoS Med.*
- **Welch TJ, Fricke WF, Rosso ML, Rasko DA, Mammel M, Eppinger M, Rosovitz MJ, White DG, McDermott PF, Wagner D, Rahalison L, LeClerc JE, Hinshaw JM, Lindler LE, Cebula TA, Carniel E, Ravel J.** Multiple antimicrobial resistance in plague : *An Emerging Risk, PLoS ONE.*

Divers

- **Carod JF, Ramarozatovo L, Randrianasolo P, Ratsima E, Randrianirina F, Rabenja Rapelanoro F.** Sporotrichose cutanée chez une patiente malgache. *Med Trop.*
- **Randrianirina F, Soares JL, Carod JF, Ratsima E, Thonnier V, Combe P, Grosjean P, Talarmin A.** Antimicrobial resistance among uropathogens that cause community-acquired urinary tract infections in Antananarivo, Madagascar. *J Antimicrobial Chemotherapy.*

Communications

Maladies virales

Orales

- **Rakoto Andrianarivelo M.** *Circulation de souches de poliovirus pathogènes dérivées du vaccin. Colloque "Des pathogènes et des Hommes : chapitre I"*. Institut Pasteur, Paris, 17-21 octobre.
- **Rakoto Andrianarivelo M.** *Detection and investigation of vaccine-derived polioviruses in Madagascar, 2005 12th Informal Consultation on the Global Polio Laboratory Network*. OMS à Genève: 26-30 juin.
- **Reynes JM.** *Diagnostic de laboratoire de la grippe aviaire hautement pathogène à H5N1 chez l'homme. 18^{ème} congrès de la Fédération pharmaceutique de l'océan indien*. Antananarivo, Hôtel Hilton, 2-4 novembre.
- **Reynes JM.** *Biologie moléculaire et VIH-1 : application au laboratoire de biologie médicale. Atelier URSIA/COI. IPM, Antananarivo, 24 avril.*

Affichées

- **Iehlé C, Razafitrimo G, Razainirina J, Volaso Andriaholinirina N, Goodman S, Georges-Courbot MC, Rousset D, Reynes JM.** *Survey for henipavirus and Tioman virus in frugivorous bats from Madagascar. Colloque scientifique du réseau International des Instituts Pasteur*. Hanoi, 27-28 novembre.

Mycobactéries

Orales

- **Ralandison S, Raobison RN, Randriambololona JD, Rakoto Alson O, Rasolofo Razanamparany V, Randrianjafisamindrakotroka NS, Rapelanoro Rabenja F.** *Elaboration de critères diagnostiques d'une ascite tuberculeuse*. Séance de section de l'Académie Malgache. Antananarivo, 19 octobre.
- **Rakotosamimanana N, Andriamihantsoa L, Ramarokoto H, Ratsitorahina M, Raharimanga, Andriamandimby SF, Soares JL, Rasolofo V.** "VACSIS

study : Expression of immunological markers in tuberculosis patients and their household contacts". Réunion annuelle des investigateurs du projet VACSIS. Paris, 30 octobre.

- **Rasolofo V.** *Etude de marqueurs de l'immunité chez des patients tuberculeux pulmonaires et leurs contacts à Antananarivo*. Journée Mycobactéries et Tuberculose, Institut Pasteur & Sanofi-Aventis. Institut Pasteur, Paris 15 mars.
- **Rasolofo V, Ratsitorahina M, Raharimanga V, Andriamandimby SF, Ramarokoto H, Soares JL.** "VACSIS study : IFN γ producing- PBMC stimulated with *M. tuberculosis* antigens in the different cohorts". Réunion annuelle des investigateurs du projet VACSIS. Paris, 30 octobre.
- **Rasolofo Razanamparany V, Ramarokoto H, Ratrimoarivony C, Andriantsimietry S, Razanakotomalala V, Rakotondrasoa S, Rahariso C, Rasolonavalona T, Vololoarinosinjatovo M, Cole ST, Honoré N.** *Faisabilité du diagnostic moléculaire de la résistance de Mycobacterium leprae à la rifampicine à Madagascar*. Séance plénière de l'Académie Malgache, 29 novembre.

Affichée

- **Ramarokoto H, Rarivoson B, Ratsirahonana O, Ranaivohajaina S, Rakotoarisaonina A, Ravaosolo J, Rasolofo V, Soares LJ.** *Première enquête nationale sur la résistance primaire aux antituberculeux à Madagascar, 2005-2006*. 37^{ème} Conférence Internationale sur la Tuberculose et les Maladies Respiratoires l'Union). Paris, 2 - 04 novembre.

Paludisme

- **Randrianarivelojosia M.** *Le paludisme dans la région sud-ouest de l'Océan Indien*. 18^{ème} Congrès de la Fédération Pharmaceutique de l'Océan Indien. Hôtel Hilton, Antananarivo. 3 novembre.
- **Randrianarivelojosia M.** *Malaria control : lessons from malaria outbreaks in the Island of Madagascar*. Symposium. "The malaria challenge in the 21 century" Karolinska University Hospital. Solna, Sweden, 27 nov-1^{er} décembre.

- **Randrianarivelosia M.** *Malaria in the island of Madagascar: past, present and perspectives for the future.* Cours pour des étudiants en PhD pour le module “The malaria challenge in the 21 century” Karolinska University Hospital. Solna, Sweden, 27 nov-1 décembre.

- **Randrianarivelosia M.** *Malaria and antimalarial drugs in Madagascar.* RAF 6/025 final project coordination meeting. Nairobi, Kenya, 5-9 juin.
- **Randrianarivelosia M.** *Lutte antipaludique à Madagascar : illustration avec des exemples du district de santé de Sainte Marie.* Réunion de lancement du Projet de lutte contre le paludisme et la filariose à Sainte Marie. OMS/MinSanPF 3 avril.

- **Randrianarivelosia M.** *New era of malaria therapy : abandoning chloroquine for use of artemisinins with reference to Madagascar health policy.* Brainstorming meeting on malaria resistance. Phnom Penh, 6-9 mars.

- **Randrianarivelosia M.** *Lutte contre le paludisme à Madagascar : des défis à relever à la base.* Conférence à Académie Nationale des Arts, des Lettres et des Sciences. Tsimbazaza, Antananarivo. 23 février.

- **Randrianarivelosia M.** *Susceptibility of Plasmodium falciparum to antimalarial drugs in Madagascar and in Comoros Union.* Présentation du partenariat entre Bionexx et TechnoServe Bionexx. Antananarivo, 20 février.

Peste

Orales

- **Duplantier JM.** *Risk factors in the urban foci of Mahajanga, Madagascar.* Antananarivo, 7-11 avril.

- **Ralimanantsoa ML.** *Plague situation and control in Antananarivo, Madagascar.* Antananarivo, 7-11 avril.

- **Rahalison L.** *Institut Pasteur Madagascar rapid diagnostic test.* Antananarivo, 7-11 avril.

- **Ratonvonjato J.** *Rodent and vector surveillance in Madagascar.* Antananarivo, 7-11 avril.

- **Ratsitorahina M, Soares JL.** *Plague central database in Madagascar.* Antananarivo, 7-11 avril.

Thèses et Mémoires

- **Rakotosamimanana N.** Mémoire de DEA de Biochimie appliquée aux sciences médicales. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo - *Application de la PCR en temps réel à l'étude de l'expression de gènes liés à l'immunité anti-tuberculeuse*. Soutenu le 2 février.
 - **Ravaoarisoa E.** Mémoire de DEA de Biochimie appliquée aux sciences médicales. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo - *Analyse familiale de la réponse cellulaire dirigée contre le stade sanguin des Plasmodium falciparum*. Soutenu le 28 juillet.
 - **Randrianarivo-Solofoniaina AE.** Mémoire de DES en Santé Publique, Institut National de Santé Publique et Communautaire - *Evaluation du risque d'importation des souches de Plasmodium résistantes aux antipaludiques des Comores à Madagascar*. Soutenu en août.
 - **Ralemamy N.** Mémoire de fin d'Etude de Planification, Institut Malgache des Techniques de Planification - *Lutte contre le paludisme dans le district de Manja de 1995 à 2010*. Soutenu le 18 août.
 - **Rasolonalona T.** Mémoire de Master 2, qualité et gestion des risques en santé. Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Université de Tours. *Gestion des risques liés à l'environnement, hors infrastructures et équipements : auto-évaluation du critère 18 d du manuel d'accréditation des établissements de santé, deuxième procédure de certification HAS*. Soutenu le 25 septembre.
 - **Ralandison DS.** Mémoire de DEFS en Biologie Médicale. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo : *La sporotrichose à Madagascar : une pathologie méconnue*. soutenue à huit clos le 4 octobre.
 - **Andriaholinirina N.** Thèse de Doctorat de Sciences, Biochimie Fondamentale et Appliquée. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo. *Contribution à la révision systématique de deux genes d'Indriidae (/Avahi/, Jordan 1834 et /Propithecus/, Bennett 1832) de la côte Est de Madagascar*. Soutenue le 30 novembre.
 - **Morin L.** Thèse de Doctorat de Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. ISPB de Lyon. *Evaluation de l'activité antiplasmodiale de plantes malgaches amères de la familles des Gentianaceae et des Meliaceae*. Soutenue le 18 décembre.
-

Missions scientifiques, ateliers et conférences

- **Reynes JM.** Réunion régionale sur la pandémie de grippe organisée. OMS à Brazzaville (12-13 janvier).
- **Rasolofo Razanamparany V.** Journée Mycobactéries et Tuberculose, Institut Pasteur & Sanofi-Aventis. Institut Pasteur à Paris (15 mars).
- **Rakoto Andrianarivelo M, Andriamamonjy SN.** Réunion annuelle du programme FSP, surveillance de la résistance aux anti-infectieux : composante échappement des Entérovirus à la vaccination. Institut Pasteur à Casablanca (20-26 avril).
- **Reynes JM, Andriamandimby SF.** Atelier sur le diagnostic des fièvres hémorragiques virales. Institut Pasteur à Dakar (5 mai-12 juin).
- **Randrianarivelojosia M.** Final project coordination meeting, RAF 6/025. Nairobi, Kenya (5-9 juin).
- **Rakoto Andrianarivelo M.** 12th informal consultation on the Global Polio Laboratory Network. OMS à Genève (26-30 juin).
- **Rabemanantsoa S.** Réunion annuelle des laboratoires nationaux de référence pour la poliomyélite. OMS à Prétoria (22-29 juillet).
- **Rakoto Andrianarivelo M.** Réunion annuelle des chefs et superviseurs techniques des laboratoires nationaux de référence pour la poliomyélite. OMS à Prétoria (22-29 juillet).
- **Reynes JM.** Atelier inter-pays sur le diagnostic et la surveillance de la grippe aviaire. OMS – KEMRI CDC à Nairobi (25-29 septembre).
- **Reynes JM.** Réunion de clôture du programme FSP, surveillance de la résistance aux anti-infectieux : composante résistance aux antirétroviraux. Institut Pasteur à Paris (16-18 octobre).
- **Rakoto Andrianarivelo M.** Colloque “Des pathogènes et des Hommes : chapitre I”. Institut Pasteur à Paris (17-21 octobre).
- **Randrianarivelojosia M.** Malaria drug resistance workshop. Wellcome Trust Sanger Centre near Cambridge, UK (19-22 octobre).
- **Rasolofo Razanamparany V, Ratsitorahina M.** Réunion annuelle des investigateurs du projet VACSIS. Institut Pasteur à Paris (30 octobre).
- **Ramarokoto H.** Atelier de travail sur les “Questions pratiques de laboratoire dans les pays à faible revenu” au cours de la 37^{ème} Conférence de l’Union. Paris (31 octobre - 4 novembre).
- **Rasolofo Razanamparany V, Ramarokoto H.** 37^{ème} conférence internationale sur la Tuberculose et les Maladies Respiratoires (l’Union). Paris (31 octobre - 4 novembre).
- **Ratsitorahina M.** Plague central database in Madagascar. Service d’Epidémiologie, IPM.
- **Randriambeloso J.** Strategies for plague control in Madagascar. Service de Lutte contre les Maladies Emergentes et Réémergentes du Ministère de la Santé.
- **Rakotosoa R.** Field experience of the district of Manjakandriana. SSD de Manjakandriana .
- **Rahalison L.** Institut Pasteur Madagascar rapid diagnostic test. Unité Peste, IPM.
- **Ratonvonjato J.** Rodent and vector surveillance in Madagascar. Service d’Entomologie, IPM.
- **Duplantier JM.** Risk factors in the urban foci of Mahajanga, Madagascar. IRD, Sénégal.
- **Ralimanantsoa ML.** Plague situation and control in Antananarivo, Madagascar. Laboratoire Central de la Peste, Ministère de la Santé/IPM, Madagascar.

Rapports techniques

Mycobactéries

- **Rasolofo V. Ramarokoto H.** Rapport d'activités 2006 et perspectives pour 2007 - Unité des Mycobactéries,

Institut Pasteur de Madagascar. Destiné à la Commission Scientifique et Médicale de l'Association Française Raoul Follereau. (IPM N°007/IPM/DOCTEC/MYCO/06). IPM, novembre.

Visites

- 11 janvier :
Groupe de Scientifique du CNARP, Antananarivo
- 30 janvier au 9 février : Tournage film
ME BERTHERAT, Garrett SMYTH, CSR/CDS OMS Genève
- 9 février : Collaboration
Mr Pascal HANDSCHUMACHER, IRD UR 024, Strasbourg
Mr Dominique LAFFLY, CNRS SET UMR 5603, Université de Pau
- 22 au 26 février : Consultation
Mme S COT, OMS Genève
- 1-6 mars et 21 août au 6 septembre : Collaboration
M G DEL PRETE, Université de Florence
- 24 mars : Visite du laboratoire de Virologie
Mr Félix REY, Chef du département de virologie, Institut Pasteur à Paris
Mr Francis DELPEYROUX, Unité de recherche prévention et thérapie des maladies humaines, Institut Pasteur à Paris
- 31 mars : Visite des laboratoires de référence et centre collaborateurs OMS
Mr TAPSOBA, Représentant OMS à Madagascar
Mmes Santa MARIA, GREKSPOOR, OMS Genève
- 11-22 avril : Collaboration
Mr Jean Marc DUPLANTIER, Mme C BROUAT, Mme ALOISEAU, IRD Montpellier, France
- 28 avril : Visite du laboratoire des Mycobactéries
22 Coordonnateurs régionaux Tuberculose-Lèpre
- 31 mai : Atelier PCR
Mr Thierry FANDEUR,
Mme Christiane BOUCHIER,
Mme Marie thérèse EKALA,
- 30 juin :
Mr Jean HASLÉ accompagnant 12 élèves, Lycée St Vincent de Rennes
- 12 octobre : Décoration de personnels
Mme Michèle BOCCOZ, Directeur des Affaires Internationales, IPP
Mr Marc JOUAN, Secrétaire Général du Réseau International des Instituts Pasteur, IPP
- 27 octobre : Visites des laboratoires Peste et Virologie
Directeur Régional de l’OMS pour l’Afrique, le Représentant de l’OMS à Madagascar, représentant du Ministère de la Santé et du Planning Familial
- 13 au 20 novembre : Visite de l’ Unité des Mycobactéries
Mr Olivier NEYROLLES, Unité de Génétique Mycobactérienne, Institut Pasteur Paris