



**Institut Pasteur  
de Madagascar**

# **RAPPORT D'ACTIVITES 2009**

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

*Réseau International des Instituts Pasteur*

# SOMMAIRE

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

## ACTIVITES DE RECHERCHE

- Paludisme .....	13
- Entomologie .....	19
- Peste .....	27
- Tuberculose et mycobactéries.....	36
- Maladies virales .....	43
- Epidémiologie.....	54

## ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

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

- Centre Collaborateur OMS pour la Peste .....	61
- Laboratoire National de Référence OMS pour la Poliomyélite .....	65
- Laboratoire National de Référence OMS pour la Rougeole.....	66
- Laboratoire National de Référence OMS pour la Grippe.....	67
- Laboratoire National de Référence des Mycobactéries .....	73
- Laboratoire National de Référence pour la Rage.....	74
- Centre National de Référence pour les Arbovirus et les virus responsables des Fièvres Hémorragiques.....	75
- Laboratoire Central de la Bilharziose .....	77

### Autres activités de santé publique

- Activités de Santé Publique du Groupe de Recherche sur le Paludisme.....	80
- Activités de Santé Publique de l'Unité d'Epidémiologie.....	81
- Entomologie : activités sur les arboviroses.....	81
- Entomologie : activités sur les vecteurs du paludisme.....	85
- Laboratoire d'Epidémiologie-Surveillance des pathologies de la crevette (LES).....	87

## ACTIVITES DE SERVICE

### - Centre de Biologie Clinique

• Laboratoire d'analyses médicales .....	94
• Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques .....	97

- Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement .....	101
- Centre International de Vaccination .....	104
- Centre de Traitement Antirabique .....	104
- Laboratoire Central de la Peste/Unité de production de bandelettes.....	106

## ACTIVITES DE FORMATION

- Formations .....	109
- Enseignements .....	113
- Centre de Documentation Scientifique .....	116

## PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

<i>Publications</i> .....	121
<i>Communications</i> .....	124
<i>Thèses, mémoires</i> .....	127
<i>Missions scientifiques</i> .....	128
<i>Visiteurs</i> .....	130

# Préambule

*L'Institut Pasteur de Madagascar est un établissement de l'Institut Pasteur placé sous tutelle du Ministère de la Santé Publique 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).*

*L'année 2009 s'est poursuivie sur le même rythme que pour l'année 2008 pour l'Institut Pasteur de Madagascar avec :*

- Sur le plan infrastructure, elle a vu la réhabilitation du bâtiment Monod avec le déménagement du Centre de Biologie Clinique au rez de chaussée et celle des logements du personnel du campus.*
- Sur le plan scientifique, la mise en place de l'unité Immunologie et de l'unité de Bactériologie Moléculaire, un nombre de publications à un niveau assez important*
- Sur le plan santé publique, une continuité du partenariat avec le Ministère de la Santé Publique pour la surveillance des maladies à potentiel épidémique tels que les arboviroses et les fièvres hémorragiques, le paludisme et la rage.*
- Sur le plan des activités de service, l'accréditation COFRAC pour l'ensemble des activités du Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement.*

## **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 pour la détection des protéines PfHRP-II et Psp.HSP dans le sang des patients impaludés au moyen d'anticorps monoclonaux en vue d'un nouveau test de diagnostic rapide du paludisme et la surveillance de la chimiosensibilité/résistance de Plasmodium se poursuivent.*

*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 juillet de cette année pour une période de quatre ans.*

*Dans le domaine de la tuberculose, les activités de diagnostic sont maintenant réalisées dans le laboratoire NSB3. Le programme de recherche de l'unité des Mycobactéries comprend : l'étude sur la corrélation entre la diversité génétique et la virulence de souches cliniques du bacille tuberculeux, la participation à l'étude sur la susceptibilité génétique aux infections mycobactériennes et le projet pour le renforcement des capacités pour la réalisation de futurs essais vaccinaux.*

*L'unité Virologie a initié cette année plusieurs programmes de recherche, un portant sur la diversité des rotavirus à Madagascar et un autre sur la diversité génétique des entérovirus humain du groupe C. Le Laboratoire National de Référence pour les arbovirus a participé à la surveillance sentinelle des maladies à potentiels épidémiques et a mis en place des techniques moléculaires en temps réel permettant le diagnostic plus rapide des arboviroses et des fièvres hémorragiques. Cette année est marquée surtout par la mise en fonction du laboratoire de niveau de sécurité 3 partagé avec l'unité des Mycobactéries.*

**Au niveau des activités de service :**

*Le Centre de Biologie Clinique, un laboratoire d'analyses biomédicales polyvalent au service du public, s'investit de plus en plus dans plusieurs programmes de recherche orientés vers la santé publique. Depuis début 2009, la démarche Qualité est lancée avec comme objectif une accréditation du secteur bactériologique selon la norme ISO 15189 en 2011.*

*Pour le Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement, l'accréditation COFRAC pour l'ensemble de ses activités a été acquise (programme 100.2 depuis le 15 mars 2009). La restructuration de l'équipe avec la nomination de la responsable qualité permettra de pérenniser et d'améliorer le système de management de la qualité.*

*L'ensemble de l'IPM s'investit dans la qualité.*

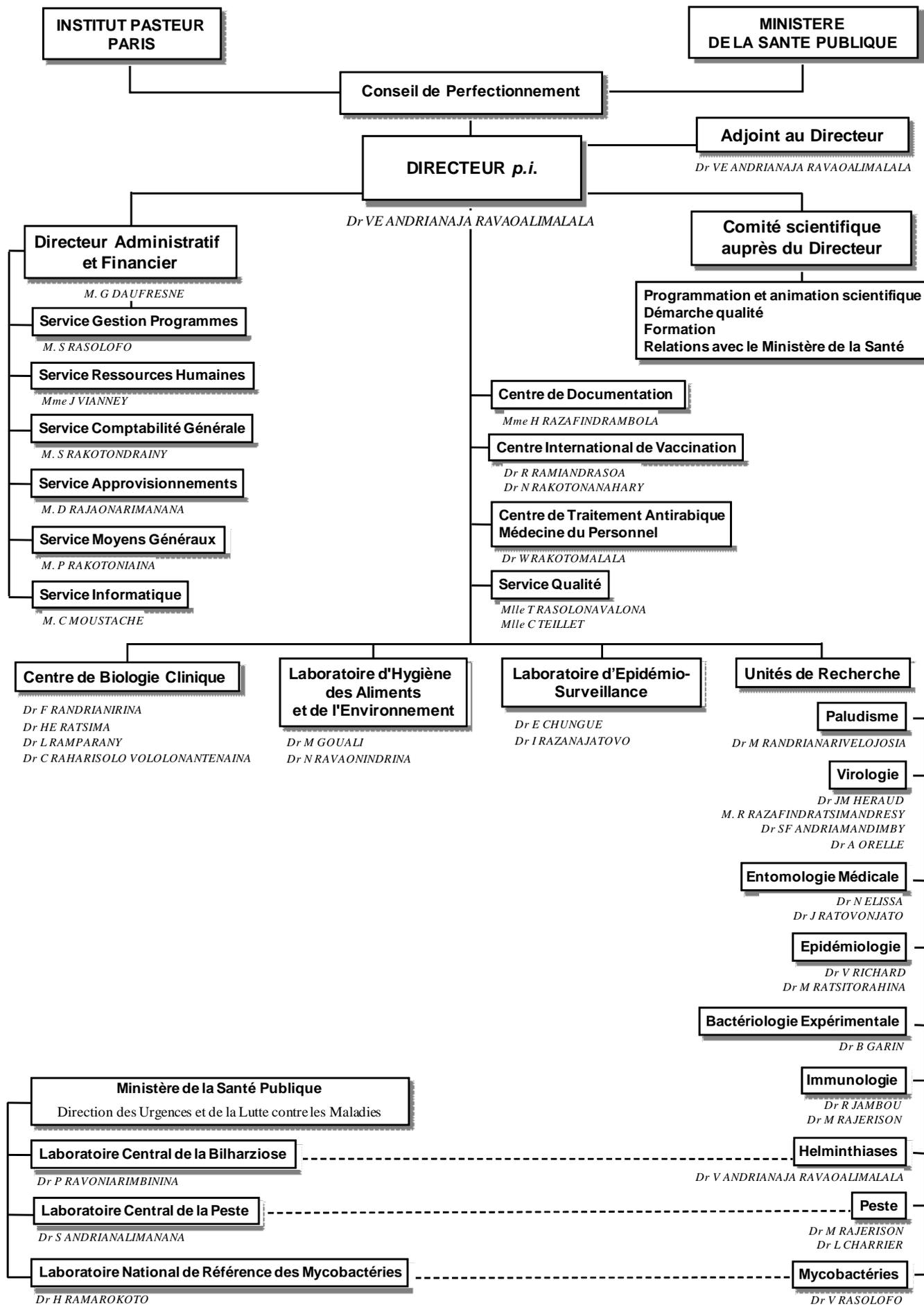
**Les activités de formation et d'enseignement :**

*Ces activités se sont poursuivies, parmi lesquelles il faut noter la pérennisation de l'Atelier International sur le Paludisme, les cours URSIDA, la poursuite des Rencontres Clinico-Biologiques en partenariat avec l'Association "Confrères de Mada". La formation continue du personnel et le soutien aux étudiants en thèse du troisième cycle reste également une priorité de l'IPM.*

**En conclusion**, *l'IPM est un partenaire scientifique compétent auprès du Ministère de la Santé Publique, ce qu'ont bien compris les bailleurs de fonds de Madagascar qui lui font confiance. L'IPM poursuit sa route pour devenir une institution moderne et efficace.*

**Docteur Vololomboahangy ANDRIANAJA RAVAOALIMALALA**  
*Directeur par interim de l'Institut Pasteur de Madagascar*

# Organigramme 2010



## Adresses électroniques

<b>Institut Pasteur de Madagascar</b>	ipm@pasteur.mg
<b>Direction</b> ANDRIANAJA RAVAOALIMALALA Vololomboahangy DAUFRESNE Guillaume	andriv@pasteur.mg gdaufresne@pasteur.mg
<b>Secrétariat de Direction</b> RAJAONERA Lalao	lalao@pasteur.mg
<b>Service Gestion Programmes</b> RASOLOFO Serge	srasolo@pasteur.mg
<b>Service Ressources Humaines</b> VIANNEY Jeannine	vianney@pasteur.mg
<b>Service Informatique</b> MOUSTACHE Christian RABENAIVO Celse RAZAFINTSALAMA Navalona	moustach@pasteur.mg celse@pasteur.mg navalona@pasteur.mg
<b>Centre de Documentation Scientifique</b> RAZAFINDRAMBOLA Hary RAZAFINTSOA Nivo Mahery RAJERISON Fara	hary@pasteur.mg nivo@pasteur.mg rfara@pasteur.mg
<b>Centre International de Vaccination</b> RAMIANDRASOA Ravo RAKOTONANAHARY Narindra	ravo@pasteur.mg narindra@pasteur.mg
<b>Dispensaire antirabique, médecine du personnel</b> RAKOTOMALALA William	malala@pasteur.mg
<b>Centre de Biologie Clinique</b> RANDRIANIRINA Frédérique RATSIMA Hariniaina Elisoa RAMPARANY Lovasoa RAHARISOLO VOLOLONANTENAINA Clairette	frederique@pasteur.mg elisoa@pasteur.mg lova@pasteur.mg claire@pasteur.mg
<b>Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement</b> GOUALI Malika RAVAONINDRINA Noro	lhae@pasteur.mg malikagouali@pasteur.mg nravaoni@pasteur.mg
<b>Laboratoire d'Epidémiologie-Surveillance</b> CHUNGUE Eliane RAZANAJATOVO Iony Manitra	echungue@pasteur.mg ionyr@pasteur.mg
<b>Unité du Paludisme</b> RANDRIANARIVELOJOSIA Milijaona	palu@pasteur.mg milijaon@pasteur.mg
<b>Unité d'Immunologie</b> JAMBOU Ronan RAJERISON Minoarisoa	rjambou@pasteur.mg mino@pasteur.mg
<b>Unité de Virologie</b> HERAUD Jean Michel ANDRIAMANDIMBY Soa Fy RAZAFINDRATSIMANDRESY Richter ORELLE Arnaud	jmheraud@pasteur.mg soafy@pasteur.mg richter@pasteur.mg aorelle@pasteur.mg
<b>Unité d'Entomologie Médicale</b> ELISSA Nohal RATOVONJATO Jocelyn	nelissa@pasteur.mg ratov@pasteur.mg
<b>Unité d'Epidémiologie</b> RICHARD Vincent RATSITORAHINA Maherisoa RAKOTOMANANA Fanjasoa	vrichard@pasteur.mg mahery@pasteur.mg fanja@pasteur.mg
<b>Unité Peste/ Laboratoire Central de la Peste</b> RAJERISON Minoarisoa CHARRIER Lucie ANDRIANALIMANANA Samuel	mino@pasteur.mg lcharrier@pasteur.mg asamuel@pasteur.mg
<b>Unité Tuberculose / Laboratoire National de Référence des Mycobactéries</b> RASOLOFO Voahangy RAMAROKOTO Herimanana	vrasolof@pasteur.mg herimana@pasteur.mg
<b>Laboratoire Central de la Bilharziose / Helminthiases</b> ANDRIANAJA RAVAOALIMALALA Vololomboahangy RAVONIARIMBININA Pascaline	andriv@pasteur.mg pascalin@pasteur.mg

# Personnel

## Directeur

M. Antoine Talarmin, médecin biologiste des Hôpitaux

## Adjointe au Directeur

Mme Vololomboahangy Ravaoalimalala, médecin

## Centre International de Vaccination

Mme Ravoniaina Ramiandrasoa, médecin

Mme Narindra Rakotonanahary, médecin,

Mme Hanitra Andrianjafy, paramédicale

## Centre de traitement antirabique Médecine du personnel

M. Tharcisius William Rakotomalala, médecin

M. Rakotonirina Maurice Ratavilahy, paramédical

## Directeur Administratif et Financier

M. Pascal Masse Navette

## Secrétaire de direction

Mme Lalao Rajaonera

## Service qualité

Mlle Tiana Rasolonaivalona

Mlle Clarisse Teillet

## Centre de Documentation

Mme Hary Cynthia Colombe Razafindrambola

## Secrétariat Scientifique

Mme Nivo Mahery Razafintsoa

Mme Fara Haingotiana Rajerison

## EQUIPE SCIENTIFIQUE

### Centre de Biologie Clinique (CBC)

#### Chef de service

M. Jean François Carod, pharmacien biologiste

#### Adjoints

##### Cellule Anatomo-pathologie

Mme Clairette Raharisolo Vololonantenaina, médecin anatomopathologiste

Mme Narindra Rakotonanahary, médecin, chargée des prélèvements génitaux

##### Cellule Biologie

Mme Elisoa Ratsima, médecin biologiste

Mme Frédérique Randrianirina, médecin biologiste

Mme Lovasoa Ramparany, médecin biologiste

#### Surveillants

Mme Henriette Ramalahanoharana, technicienne supérieure

M. Randrianaivo Arsène, technicien qualifié

#### Techniciens

Mme Marie Lidwine Rasoamalala

Mme Fanja Brigitte Razanadrasoa

Mme Eugénie Rambolatiana Rahasana

Mme Bénédicte Razanamialisoa

Mme Lantsoa Miarana Ravololomboahangy

Mme Marie Adeline Raveloarilalao

Mme Odette Voahanginirina

Mme Mialimalala Razanaharinivo

Mme Bakoly Ramiadantsoa

Mme Marie Goretti Rasoamalala

Mlle Miarana Tahiry Andriamalala

Mlle Rivonantenaina Razafimoraina

Mlle Miadanandrianina Rakotonanahary

M. Georges Ranaivo

M. Manantena Eddie Ramanantsoa

M. Hajalalaina Ramaherison

M. Mahenintsoa Rakotondrazaka

M. Nofiniaina Randriamiamambola

M. Rojo Harson Justin Andrianjatovo

M. Rivoson Rasolomandimby

#### Aide-techniciens

M. Nônô Randrianasolo

#### Agents de laboratoire

M. Jean Pierre Ramangalahy

M. Joachim Rakotomalala

M. Mamy Hugues Ranaivoson

#### 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

Mme Hanta Rakotoharimanana

Mlle Sylvia Noroarisoa Rakotomalala

### Unité Bilharziose

#### Chef d'Unité

Mme Vololomboahangy Ravaoalimalala, médecin, chargé de recherches

#### Adjoint

Mme Pascaline Ravoniarimbina, médecin, détaché du MinSan

#### Personnels détachés du MinSan

Mme Sahondra Rasoanaivo, secrétaire

M. Clovis Norbertio Rasamilaza, technicien de laboratoire

M. Lalao Augustin Razanajatovo, agent de laboratoire

### Unité d'Entomologie

#### Chef d'Unité

Mme Nohal Elissa, Ph D, entomologiste médical

#### Adjoint

M. Jocelyn Ratovonjato, médecin entomologiste médical

#### Surveillant

M. Lala Andrianaivolambo, technicien supérieur

#### Agent de laboratoire

M. Haja Johnson Velonirina

#### Techniciens

M. Etienne Tata

M. Jean Claude Rakotoniaina

M. Tojo Rindra Ramihangihajason

## Unité d'Epidémiologie

### Chef d'Unité

M. Vincent Richard, médecin épidémiologiste

### Adjoints

M. Maherisoa Ratsitorahina, médecin, coordonnateur  
Mme Fanjasoa Rakotomanana, médecin, responsable cellule de Système d'Information Géographique

### Médecins assistants

Mme Rindra Vatosoa Randremanana  
Mme Marie Laurence Randrianasolo  
Mme Vaomalala Raharimanga  
Mme Soatiana Cathycia Rajatonirina  
M. Arthur Dieudonné Randriamanantena  
M. Charles Emile Ramarakoto

## Unité des Mycobactéries

### Chef d'Unité

Mme Voahangy Razanamparany, scientifique

### Adjoint

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

### Surveillante

Mme Pascaline Ravolonandriana, technicienne de labo

### Techniciens

Mme Elie Jeanne Vololonirina  
M. Andry Toky Rakotoarivo  
M. Basile Louis Razanajatovo  
M. Luc Arsène Andrianantara

### Agents de laboratoire

M. René Harifetra Razanatsimba  
M. Frédéric Guy Ranaivondramanga

## Unité Paludisme

### Chef d'Unité

M. Milijaona Randrianarivojosia, scientifique, chargé de recherches

### Secrétaire

Mme Anjara Mihamina Ramanankoarivo

### Techniciens

Mme Emma Rakotomalala, technicienne supérieure

Mme Seheny Razanatsiorimalala  
M. Hasinirina Rogelin Rahehinjafy  
M. Stéphane M. Rabearimanana  
M. Martial Jahevitra  
M. Tantely Mahefa Randriantsoa

### Agent de laboratoire

M. Tianasoa Andriamiandranoro

## Unité Peste

### Chef d'Unité

Mme Lila Rahalison, scientifique

### Adjoints

Mme Minoarisoa Rajerison, scientifique, responsable production des bandelettes  
Mme Soanandrasana Rahelinirina, scientifique, responsable mammalogie

### Surveillante

Mme Claudine Raharimanana, technicienne de laboratoire

### Techniciens (IPM)

Mme Voahangy Andrianaivoarimanana  
Mme Fehivola Mandanirina Andriamiarimanana  
Mme Corinne Ernestine Rahaingosoamamitiana

M. Michel Ranjalahy  
M. Désiré Andrianimanana

### Agents de laboratoire IPM

Mme Anne Marie Ravelonoro  
M. Joely Razafilalaintsoa

### Techniciens Laboratoire Central de la Peste (MinSan)

M. Mamy Ratsimba  
Mme Lalao Angeltine Ralafiarisoa

### Agents de laboratoire (MinSan)

Mme Mariette Rasoasolotsara

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

### Chef de laboratoire

Mme Malika Gouali, pharmacienne

### Adjoint

Mme Noro Ravaonindrina, médecin

### Responsable technique

Mme Fanjasolovololona Razafindralambo

### Conseiller qualité en entreprise

Mme Vero Ramiandrasoa

### Responsable qualité

Mme Lantsoa Zoé Raharivivo

### Surveillant

M. Bien Aimé Rafanomezantsoa

### Secrétaires

Mme Doris Raveloniaina  
Mme Irène Claudia Lalaharivony

### Techniciens

M. Patrick Tantely Rafalimanana  
M. Jackson Mahazosaoatra  
Mme Eliane Rajaomiarisoa  
Mlle Joelle Raonivalo

### Agents de laboratoire

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

### Préparateurs

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

## Laboratoire d'Epidemio-Surveillance

### Chef de laboratoire

Mme Eliane Chungue, scientifique, HDR

### Adjoint

Mlle Iony Razanajatovo, scientifique

### Techniciens

M. Bary Hery Jaofara

## Unité de Virologie

### Chef d'Unité

M. Jean Michel Héraud, scientifique, chargé de recherches

### Adjoints

Mme Soa Fy Andriamandimby, médecin

M. Richter Mamy Razafindratsimandresy, scientifique

M. Arnaud Orelle, scientifique, VIE

### Techniciens

Mme Sendraharimanana Rabemanantsoa

Mme Josette Elysée Razainirina

M. Nelson Seta Andriamamonjy

M. Girard Marcellin Razafitrimo

M. Herivelo Randriamanantena

M. Jean Pierre Ravalohery

M. Jean Théophile Rafisandratantsoa

Mme Ravaoarisoa Rakoto Rakotomalala, animalerie

### Secrétaire

Mme Aline Ratovohasina

### Agents de laboratoire

M. Désiré Rakotondramanana

M. Jules Ravalohery

M. Dodoly Alain Heriniaina

M. Gabriel Ravelojaona

## ADMINISTRATION ET SERVICE TECHNIQUE

### Directeur Administratif et Financier

M. Pascal Masse Navette

Mme Julie Lina Hajarimanana, chargée des suivis de commandes

M. Christian Rasamoelina Rarija, gestion des matériels

### Adjoints

M. Serge Rasolofo, responsable gestion de programmes

Mme Jeannine R Vianney, chargé des ressources humaines

### Service des moyens généraux

M. Prosper Rakotoniaina, chef du service

M. Barinjaka Rabemalala, adjoint au chef de service

### Assistante au RH

Mme Annie Josiane Raholiarimalala

### Chauffeurs

M. Rodolphe Razafindrabe

M. Joseph Randrianasy

M. Désiré Rakotonivelo

M. Gilbert Rakotoniaina

M. Richard Rajerison

M. Olivier Randriambololona

### Secrétaire

Mme Harinivo Razafindravao

### Central téléphonique

Mme Odile Robsona

M. Jeannot Razafindrabe

M. José Christian Razafimamonjy

### Femmes de ménage

Mme Perline Rahantamalala

Mlle Hantanirina Solo Rakotova

Mme Eméline Rasamoelisoa

### Vaguemestre

M. Félix Andrianasolo

### Service de la comptabilité

M. Germain Rajaonarimanana, chef comptable

M. Félicien Razafimbelo, caissier en chef

M. Dofaherinjaka, cellule dépenses

M. Rakotondrasoa Faly, cellule dépenses

Mme Razanamalala Verohanitra Yvonne, cellule dépenses

Mlle Brigitte Raharimalala, cellule recettes

Mlle Rasoanirina Justine, cellule recettes

### Cantine

M. Jean Michel Solo Rabefaniraka

M. Zakamanana Randrianjafy

M. Gaëtan Emile Razafimarosoa

### Service Informatique

M. Christian Moustache, chef de service

M. Sandy Rakotondrainy, contrôleur de gestion

M. Celse Rabenaivo, contrôleur de gestion

### Agents de sécurité

M. Manitra Rasaïa Rakotomandimby

M. Joël Yvon Razafimanantsoa

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

### Service des approvisionnements

M. Dieudonné Rajaonarimanana, responsable du service

M. Solofotiana Raharison, déclarant en douanes

M. Alfred Rakotoarinelina, agent de transit

M. Nirina Rakotonanahary, magasinier

M. Solo Andrianantenaina, agent d'achat

M. Luc Anderson Rakotondrazaka  
M. Bernard Rafanilonirina  
M. Michaël Prosper Rakotoniaina  
M. Rijaniaina Hasinarivola  
M. Bernard Ratovoarisoa  
M. Narcisse Razafimahaleo

#### **Agents d'entretiens**

M. Lemampandry Ramanandraivonona, incinérateur  
M. Johnny Rakotozafiniaina, mécanicien  
M. Josoa Rabemanantsoa, électricien en chef  
M. Germain Rakotomalala, plombier/électricien  
M. Patrick Razafindrabe, plombier/électricien  
M. 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. 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.***

## Activités et projets de recherche 2009

Activités et Projets de recherche								Financements			
	Unité Epidemio	Unité Viro	Unité Entomo	Unité Immuno	Unité myco	Unité Palu	Unité Peste	Unité Bilharziose	CBC	LHAE	LES
Surveillance sentinelle (Fièvre, grippe, Arbo, Palu, Etude transversale "Diarrhées infantiles" IDR en milieu scolaire	X	X	X			X			X	X	
BLSE en milieu communautaire	X				X				X		
Suivi - évaluation de la Distribution de Masse de Médicaments dans le cadre de la lutte contre les Maladies Tropicales Négligées								X			
Enquêtes épidémiologiques : parasitologie et malacologie								X			
Susceptibilité génétique aux infections mycobactériennes (TBGEN -PTR202)	X				X						
Diversité des souches et virulence de M. tuberculosis (PTR253)	X				X						
Renforcement des capacités en essais cliniques tuberculose	X				X						
Outils diagnostiques tuberculose					X						
Tests moléculaires de résistance aux antituberculeux					X						
Diffusion Peste: humain-réservoir-vecteur-chien	X	X					X				
Etude Réponse Immune (Peste) climat et santé (Peste)	X	X		X			X				
Leptospirose/fièvres récurrentes		X					X				
Antibiorésistance chez Acinetobacter baumannii.	X							X			
Developpement outil de diagnostic						X					
Evaluation de l'efficacité thérapeutique d'antipaludique						X					
Biodiversité phylogéographie et dynamique évolutive de vecteurs d'arboviroses			X								
Fièvre de la vallée du Rift : RIFT OI		X	X								
Inventaire des vecteurs de peste en zone selvatique			X								
Elevage de vecteurs (moustiques et puces) en insectarium			X								
Investigations et indicateurs autour des cas déclarés de maladies vectorielles	X	X	X			x					
Suivi - évaluation de campagnes d'aspersions intradomiciliaires d'insecticides			X								
Elaboration du plan stratégique nationale de la lutte contre le paludisme à Madagascar	X		X			X					
Renforcement des capacités pour combler les lacunes entre la recherche/développement et mise en œuvre des interventions de lutte contre les vecteurs			X								
Amélioration outils diagnostic des maladies de la crevette										X	
Plan national de surveillance des maladies de la crevette										X	
Plan national de surveillance épidémiologique de <i>Vibrio parahaemolyticus</i>									X	X	
Caractérisation moléculaire de <i>Vibrio nigrripulchritudo</i>									X		
Surveillance et réponse à la grippe pandémique	X	X									
Etiologies virales des infections respiratoires aigües à Antananarivo	X	X									
Virus et Chauves-souris		X									
Surveillance animale de la Fièvre de la Vallée du Rift (FVR)		X	X								
Recherche de réservoir sauvage du virus de la FVR		X	X								
Distribution de la FVR à Madagascar (étude sur bouchers)			X								
Arenavirus et Hantavirus chez des petits mammifères sauvages terrestres de Madagascar		X									
Distribution géographique en 2008 de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo à Madagascar			X								
Surveillance Paralysie Flasques Aigües (PFA)		X									
Surveillance Rougeole		X									

---

---

# PALUDISME

---

---

## RESPONSABLES SCIENTIFIQUES

- **M Randrianarivelojosia**, scientifique, chef de l'Unité

## SCIENTIFIQUES ASSOCIÉS

- **JM Reynes, JM Héraud**, Unité de Virologie, Institut Pasteur de Madagascar
- **V Richard, L Randrianasolo**, Unité d'Epidémiologie, Institut Pasteur de Madagascar
- **M Maeder**, post-doctorant, Unité de Recherche sur le Paludisme, Institut Pasteur de Madagascar
- **E Ravaoarisoa, V Andrianaranjaka**, étudiantes en thèse, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo
- **R Ratsimbazafy**, étudiant en thèse, Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo

## COLLABORATIONS

### Prestataires

- **Société PARIS**, production des anticorps monoclonaux

### Locales

- **H Razakatiana, LN Rasoazanamiarana**, Programme d'Elimination de la Filariose Lymphatique, Ministère de la Santé Publique, Antananarivo
- **NV Andriaholinirina**, Faculté des Sciences et de Médecine, Université de Mahajanga
- **H Rabarison**, Université d'Antananarivo
- **M Ratsimbason**, Centre National d'Application de Recherches Pharmaceutiques, Antananarivo
- Direction des Urgences et de la Lutte contre les Maladies Transmissibles, Ministère de la Santé Publique
- Service de Lutte Contre le Paludisme, Ministère de la Santé Publique

### Extérieures

- **O Mercereau Puijalon, F Arieu, L Duval**, Unité d'Immunologie Moléculaire des Parasites (UMP), IP Paris
- **D Mattei**, scientifique, Institut Pasteur à Paris
- **T Fandeur**, scientifique, chef de l'Unité Parasitologie, Centre de Recherche Médicale et Sanitaire (CERMES), Niger
- **H Bedouelle**, scientifique, Institut Pasteur à Paris
- **T Fusai**, scientifique, Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA), Marseille
- **J Clain**, IRD UMR216, Mère et enfant face aux infections tropicales, Université Paris Descartes, Paris, France
- **National Institute for Communicable Diseases (NICD)**, Afrique du Sud
- **S Cognat**, Laboratory Quality and Management Strengthening International Health Regulations, Coordination Health Security and Environment World Health Organization, Bureau OMS de Lyon, France
- **S Razafimandimbison**, Department of Botany, Bergius Foundation, Stockholm University, Stockholm, Suède
- **Programme Impact Malaria**, sanofi-aventis, France
- **C Bouchier**, Génopôle, IP Paris

## SOUTIENS FINANCIERS

- Fonds Mondial
- Programme Impact Malaria, sanofi-aventis
- Ministère de la recherche et des nouvelles technologies "Fonds dédié pour combattre les maladies parasitaires", France
- ACIP/RIIP
- Projet Interne, Institut Pasteur de Madagascar
- OMS
- President Malaria Initiative (PMI)

*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- Détection des protéines PfHRP-II et Psp.HSP-70 dans le sang des patients impaludés au moyen d'anticorps monoclonaux : implications pour un diagnostic rapide du paludisme**
- 2- Impact du changement de politique de lutte contre le paludisme sur la population de *Plasmodium sp* à Madagascar**

### **ACTIVITE DE SANTE PUBLIQUE (voir page 80)**

- Surveillance de la chimiosensibilité/résistance de *Plasmodium* à Madagascar**
-

## ACTIVITES DE RECHERCHE

### I- DÉTECTION DES PROTÉINES PfHRP-II ET P<sub>SP</sub>.HSP-70 DANS LE SANG DES PATIENTS IMPALUDÉS AU MOYEN D'ANTI-CORPS MONOCLONAUX : IMPLICATIONS POUR UN DIAGNOSTIC RAPIDE DU PALUDISME

IPM : *E Ravaoarisoa, M Jahevitra, T Andriantsoa, R Raheinjafy*

CERMES Niger : *T Fandeur*

Institut de recherche biomédicale des armées, Marseille : *T Fusai*

IP Paris : *D Mattei, O Puijalon*

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

Le diagnostic biologique est une des clés majeures dans la prise en charge des accès palustres. Les Tests de Diagnostic Rapide (TDR) sont de plus en plus utilisés dans les formations sanitaires sous les tropiques. Nous nous proposons ainsi d'entreprendre une étude sur la reconnaissance des antigènes de *Plasmodium* par des anticorps monoclonaux recombinants pouvant servir à la production de nouveaux TDR plus performants. Quatre anticorps monoclonaux<sup>1</sup> : 2 anti-HRP-II (G4C17 et E5A12) et 2 anti-HSP-70 (F1110 et F1546), dirigés respectivement contre les protéines PfHRP-II et pHSP70 ont été sélectionnés pour cette étude. Les résultats préliminaires des ELISA sandwich réalisés à l'Institut Pasteur de Madagascar (E5A12 *versus* E5A12 biotinylé et G4C17 *versus* G4C17 biotinylé) ont montré que l'épitope reconnu respectivement par E5A12 et G4C17 est unique. En ELISA compétitif, C9C11 et E5A12 ne reconnaissent pas les mêmes épitopes. Ainsi, les ELISA ont été réalisés avec les couples C9C11/E5A12\* et F1110/F1546\*.

Tableau I : Sensibilité de la détection par ELISA de HRPII ou de HSP-70 chez des isolats sauvages de *Plasmodium sp* à Madagascar par rapport à la microscopie

Détection de <i>Plasmodium sp</i> en microscopie	Détection de HRP-II		Détection de HSP-70	
	Négatif	Positif	Négatif	Positif
<b>Négatif (n = 46)</b>	4	42	23	23
<b>Positif (n = 185)</b>	9	176	81	104

L'évaluation de la spécificité et de la sensibilité de la détection des antigènes parasitaires par les 4 anticorps

1 : *Ravaoarisoa E et al.* Sequence analysis and preparation of recombinant monoclonal antibody Fab specific for the *P. falciparum* Histidin-rich Protein 2

monoclonaux a été réalisée, ce, en utilisant la technique ELISA sandwich sur des isolats de *Plasmodium sp*. Les échantillons de sang collectés des patients impaludés ont été acheminés en chaîne de froid depuis les sites sentinelles du Réseau d'Etude de la Résistance (RER) vers l'Institut Pasteur de Madagascar. Seuls les résultats obtenus avec des prélèvements acheminés en moins de 48 h (N = 231) ont été analysés. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux de la microscopie (tableau II) et à ceux de la PCR classique pour le diagnostic du paludisme (tableau III).

Tableau II : Sensibilité de la détection par ELISA de HRP-II ou de HSP-70 chez des isolats sauvages de *Plasmodium sp* à Madagascar par rapport au diagnostic par PCR

Détection de <i>Plasmodium sp</i> par PCR	Détection de HRP-II		Détection de HSP-70	
	Négatif	Positif	Négatif	Positif
<b>Négatif (n = 33)</b>	4	29	18	15
<b>Positif (n = 198)</b>	9	189	86	112

Toutes charges parasitaires confondues, sans distinction d'espèce, la sensibilité de la détection de HRPII est meilleure par rapport à celle de HSP-70. A ce stade de l'étude, quelle que soit la méthode de référence choisie (microscopie ou PCR), les taux de faux positifs dans la détection de HRPII et des faux négatifs dans la détection de HSP-70 ne feraient pas de ces antigènes d'excellents candidats pour le développement de bandelettes réactives pour le diagnostic du paludisme. La réalisation de cette étude permet d'acquérir les techniques de bases nécessaires pour le clonage et l'expression des gènes. Ce projet est presque terminé mais des manipulations seront effectuées pour confirmer/infirmier l'absence de *P. ovale* (non détecté en PCR standard malgré l'utilisation de deux protocoles différents). Des analyses plus fines des résultats seront faites.

### 2- IMPACT DU CHANGEMENT DE POLITIQUE DE LUTTE CONTRE LE PALUDISME SUR LA POPULATION DE *PLASMODIUM SP* À MADAGASCAR

IPM : *V Andrianaranjaka, M Jahevitra, T Andriantsoa, R Raheinjafy*

*Colla. extérieure* : à établir formellement avec l'Institut de recherche biomédicale des armées, Marseille; IPP; Université Paris Descartes

L'objectif du présent projet est de mesurer l'impact du changement de politique de lutte contre le paludisme à Madagascar sur l'émergence des parasites génétiquement résistants aux antipaludiques commu-

nément utilisés et sur la mixité ou la multiplicité des infections palustres.

L'utilisation des antipaludiques joue un rôle clé dans la lutte contre le paludisme à Madagascar depuis le début du 20<sup>ème</sup> siècle. La chloroquine (CQ) introduite en 1945, a été utilisée à des fins curatives et préventives pendant 60 ans avant d'être remplacée par la combinaison artésunate + amodiaquine selon la nouvelle politique publiée en décembre 2005. Cette politique recommande l'utilisation de l'association sulfadoxine-pyriméthamine (SP) pour le traitement intermittent préventif chez les femmes enceintes. SP est utilisée à Madagascar depuis au moins 36 ans selon la littérature. La résistance des plasmodies à la CQ reste modérée à Madagascar avec un très faible taux de souches de *P. falciparum* mutées *pfcr* 76T (un marqueur génétique de la résistance de *P. falciparum* à la CQ). L'efficacité thérapeutique de SP malgré l'apparition des souches de *P. falciparum* mutées *pfdhfr* 108N dans certaines régions de Madagascar (un marqueur de la résistance de *P. falciparum* à la pyriméthamine) et celle de l'amodiaquine ont été mise en évidence récemment. Ces faits sont en contraste avec la situation en Afrique de l'est et en Asie du sud est. Partant de ces observations, avec l'utilisation de SP chez les femmes enceintes et l'utilisation anarchique pour le reste de la population (en plus des femmes enceintes), nous avançons entre autres l'hypothèse de la sélection et l'émergence de souches de *P. falciparum* mutés pour *pfdhfr*. Pour tester cette hypothèse, la détection de la mutation *pfdhfr* S108N chez les isolats de *P. falciparum* par la méthode PCR/RFLP a été adoptée. Des clones de *P. falciparum* dont FCM29 (muté *pfdhfr* 108N), 3D7 (*pfdhfr* sauvage S108) et Palo-Alto FCM29 (muté *pfdhfr* 108T) ont été utilisés comme contrôle.

Les premiers tests ont été effectués sur des isolats de *P. falciparum* collectés chez des écoliers de 6 à 11 ans dans l'île de Sainte Marie en 2009. Cette île, sur la côte orientale de Madagascar, est un des premiers districts de santé où SP a été introduit en 2006. La région d'intérêt a été amplifiée par PCR chez 124/164 échantillons étudiés. Le début de la circulation des souches de *P. falciparum* potentiellement résistant à la pyriméthamine a été mise en évidence en détectant 2,4%

[intervalle de confiance 95% : 0,5 – 6,9%] des isolats analysés contenant des souches de *P. falciparum* mutées *pfdhfr* 108N (tableau III). Il est à souligner qu'aucun isolat de *P. falciparum* contenant de souches mutées pour *pfdhfr* 108 n'a été détecté à Sainte Marie parmi les isolats étudiés en 2004.

Tableau III : **Détection *P. falciparum* génétiquement résistant à la pyriméthamine à Sainte Marie en 2009**

Génotype de <i>pfdhfr</i> 108	Nombre d'isolats de <i>P. falciparum</i>
Sauvage (sensible à la pyriméthamine)	121
Muté 108N (résistant à la pyriméthamine)	2 (1,6%)
Sauvage + muté (mélange sensible + résistant à la pyriméthamine)	1 (0,8%)
<b>Total</b>	<b>124</b>

On ne saura pas prédire à quelle rapidité apparaîtra la résistance forte de *P. falciparum* à la SP avec des échecs de traitement à Madagascar en général et à Sainte Marie en particulier. Pour commencer, il faut collecter plus d'isolats de plasmodies de Sainte Marie en 2010 et pour les années à venir afin de séquencer *pfdhfr* (dont des mutations connues confèrent la résistance à la pyriméthamine) mais aussi *pfdhps* (dont des mutations connues confèrent la résistance à la sulfadoxine). Aussi, il s'avère crucial de mettre en place la collecte des isolats de *P. falciparum* chez les femmes enceintes vues en consultations prénatales et aussi des placentas pour compléter "l'histoire des parasites potentiellement résistant au SP à Madagascar" suite à l'introduction du traitement préventif intermittent par SP dans la politique de lutte contre le paludisme chez les femmes enceintes.

Dans ce projet, l'activité *in vitro* de la CQ contre des isolats sera évaluée parallèlement à celle de désethyl-CQ pour déceler dans le temps et dans l'espace la circulation des souches résistantes (qui auront un rapport de CI50-CQ/CI50-d-CQ plus élevé); et *pfmdr1* sera séquencé pour détecter éventuellement des mutations (connues ou non) pouvant influencer la sensibilité des parasites à l'amodiaquine et à l'artémisinine et dérivés (artésunate + amodiaquine étant le médicament de première ligne pour le traitement communautaire ou dans les centres de santé de base des accès palustres simples à Madagascar).

## ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

(voir page 80)

---

---

# ENTOMOLOGIE MEDICALE

---

---

## RESPONSABLE SCIENTIFIQUE

- **N Elissa**, Ph.D., chef de l'Unité
- **J Ratovonjato**, médecin, adjoint au chef de l'Unité

## CHERCHEURS ASSOCIES

- **L Rahalison**, **S Rahelinirina**, **S Telfer** (Post-Doc), scientifiques, Unité Peste
- **M Randrianarivelojosia**, scientifique, **MA Rason**, médecin, Unité de Recherche sur le Paludisme
- **V Richard**, **L Randrianasolo**, médecins, Unité d'Epidémiologie
- **JM Reynes**, vétérinaire Ph D, **R Razafindratsimandresy**, scientifique, **SF Andriamandimby**, médecin, Unité Virologie
- **LM Tantely**, étudiant en thèse, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo

## COLLABORATIONS

### Locales

- **PB Tafangy**, **AR Robinson**, Programme National de Lutte contre le Paludisme, DULMT/SLME, MinSanPF
- **AE Randrianarivo-Solofoniaina**, DGS/DULM/SSELME/SurEPI
- **J Rahamefy**, SSELME
- **B Ramarosandratana**, **ME Rakotondraibe**, **R Rakotoson**, Service de Lutte contre le Paludisme (SLP)
- **O Ramilijaona**, **L Rafaraso**, **Razafindrassata**, Faculté des Sciences, département d'Entomologie et de Biologie Animale, Université d'Antananarivo
- **L Tuseo**, **S Rakotondrazafy**, OMS, Représentation Antananarivo
- **NH Rakotondrajaona**, USAID
- **D Rasolofondranohatra**, RTI
- **I Coulibaly**, UNICEF
- **O LeTouzé**, PSI/Madagascar
- **DW Dickerson**, PMI
- **A Finlay-Vickers**, Centers for Disease Control and Prevention, Malaria Branch
- **S Goodman**, **V Soarimalala**, Association VAHATRA
- **LT Razafimanantsoa**, **P Fenezara**, Direction des Services Vétérinaires
- **A Kamara**, **A Huynh**, **A Rakalomanana**, FAO
- **R Rabenarivahiny**, LNDV

### Extérieures

- **D Fontenille**, **V Robert**, **G Legoff**, IRD, Montpellier
- **V Chevalier**, CIRAD
- **M Cornet**, **E Ferquel**, Centre National de Référence des Borrelia, Unité de Génétique Moléculaire des Bunyavirus, IP à Paris
- **AB Failloux**, Unité de Génétique Moléculaire des Bunyavirus, Laboratoire d'Entomologie, IP à Paris
- **C Dauga**, PF4 Génopole, IP à Paris
- **Université de Versailles**
- **E Cardinal**, CRVOI
- **M Baylis**, **S Telfer**, **K Kreppel**, Université de Liverpool

## SOUTIENS FINANCIERS

- Gouvernement Malagasy
- OMS
- Fondation Bill et Melinda GATES
- Institut Pasteur de Madagascar
- IP Paris, Actions Concertées Inter-Pasteuriennes (ACIP)
- Centre de Recherche et de veille sur les Maladies Emergentes dans l'Océan Indien (CRVOI)
- FAO

Les activités réalisées au sein de l'Unité d'Entomologie médicale en 2009 rentrent dans les orientations générales de l'Institut Pasteur de Madagascar et regroupent les différentes activités de recherche, de santé publique, de service ainsi que les activités de formations et d'enseignement (selon les priorités sanitaires de Madagascar). La plupart de ces activités sont menées d'une part, en association avec différentes Unités de l'Institut (Peste, Paludisme, Virologie et Epidémiologie) et, d'autre part, en collaboration avec des institutions de recherche ou de santé publique œuvrant au niveau national (Ministère Malagasy de la Santé...) et international (Institut Pasteur à Paris, CIRAD, OMS, FAO, UNICEF, USAID, etc.).

Au regard de la situation qui a prévalu dans le pays en 2009, les activités de l'Unité ont surtout concerné la poursuite des programmes déjà mis en place [« étude de la biodiversité, phylogéographie et dynamique évolutive des moustiques vecteurs de deux arboviroses émergentes (la Fièvre Chikungunya et la Fièvre de la Vallée de Rift), au Cameroun et à Madagascar (financement ACIP) » ainsi que « étude des vecteurs impliqués dans la transmission de RVF en zone selvatique dans le cadre du projet régional : Fièvre de la Vallée du Rift dans l'Océan Indien (RIFT-OI) (financement CRVOI) »].

En termes de santé publique, l'Unité a participé activement à l'organisation des systèmes d'alerte et de surveillance des épidémies de paludisme et d'arboviroses.

Concernant la lutte contre le paludisme, l'Unité prend part activement au Comité Roll Back Malaria (RBM) et du sous comité Surveillance Entomologique, ce qui a valu l'implication des chercheurs de l'Unité à 2/3 de leur temps dans la rédaction des demandes de financement du fonds mondial et des décisions à prendre. L'Unité a été désignée « Unité Nationale de Référence » avec comme partenaire, le Service d'Entomologie de la Vice Primature chargée de la Santé Publique (VPM-SP) dans le cadre d'un projet qui dure quatre années sur la surveillance des vecteurs du Paludisme et de leurs sensibilités aux insecticides dans sept pays africains.

Concernant la lutte contre les arboviroses, l'Unité fait partie du comité de pilotage de la lutte contre la Fièvre de la Vallée du Rift. L'augmentation des cas déclarés et confirmés de Fièvre de la Vallée du Rift et de Chikungunya à Madagascar a conduit l'Unité à réaliser des investigations entomologiques, autour de plusieurs zones touchées par ces maladies.

---

## DECOMPOSITION DU PROGRAMME

### ACTIVITES DE RECHERCHE

#### 1- Vecteurs d'Arbovirose

- Biodiversité, phylogéographie et dynamique évolutive des moustiques vecteurs de deux arboviroses émergentes: Fièvre de la Vallée du Rift et Fièvre Chikungunya au Cameroun et à Madagascar
- Fièvre de la Vallée du Rift dans l'Océan Indien : vecteurs impliqués dans la transmission du FVR en zone selvatique

#### 2- Vecteurs de fièvres récurrentes à tiques

- La leptospirose et les fièvres récurrentes à tiques à Madagascar : dépistage et épidémiologie

#### 3- Vecteurs de la peste

- Inventaire des puces récoltées sur les petits mammifères en forêt

#### 4- Elevage de vecteurs en insectarium

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

### ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE (voir page 81)

#### 1. Arboviroses :

- Vecteurs impliqués dans la transmission de FVR lors des épidémies
- Investigations entomologiques lors de l'épidémie de Chikungunya à Toamasina

#### 2. Paludisme :

- Participation à l'élaboration du plan stratégique national de la lutte contre le paludisme à Madagascar et à la demande de financement du fonds mondial via les demandes basées sur les stratégies nationales (NSA)
- Renforcement des capacités nationales pour combler les lacunes entre la recherche/développement et la mise en oeuvre efficace des interventions de lutte contre les vecteurs
- Mise en place du projet "suivi-évaluation entomologique des campagnes d'aspersion intradomiliaire d'insecticide" et étude préliminaire
- Enquêtes entomologiques autour des cas de paludisme dans le district de Maevatanàna
- Réalisation des analyses des moustiques au laboratoire dans le cadre de l'évaluation de la lutte contre le paludisme dans l'île Sainte Marie (Madagascar)

# ACTIVITES DE RECHERCHE

## VECTEURS D'ARBOVIROSES

**1- BIODIVERSITÉ, PHYLOGÉOGRAPHIE ET DYNAMIQUE ÉVOLUTIVE DES MOUSTIQUES VECTEURS DE DEUX ARBOVIROSES ÉMERGENTES (LA FIÈVRE CHIKUNGUNYA ET LA FIÈVRE DE LA VALLÉE DU RIFT), AU CAMEROUN ET À MADAGASCAR (PROJET ACIP)**

IPM : *J Ratovonjato, JC Rakotoniana, N Elissa*

IPP : *C Dauga, AB Failloux*

CP Cameroun : *M Demanou*

IRD Cameroun : *Ch Paupy*

### Situation et objectif

Le projet vise à étudier les moustiques vecteurs de deux arboviroses émergentes, la Fièvre de la Vallée du Rift (FVR) et la fièvre Chikungunya (CHIK) : en Afrique Centrale, au Cameroun, en Afrique Australe/Océan Indien, et à Madagascar :

Ces deux arboviroses ont en commun d'avoir un très large spectre d'hôtes invertébrés qui varie d'une région à l'autre et d'une période à l'autre. Cette étude tentera de mettre en évidence les interactions entre les facteurs écologiques, les facteurs humains et la dynamique des populations de vecteurs susceptibles de favoriser la transmission de la FVR et de la CHIK et l'émergence d'une épidémie.

### Démarche scientifique

Ce projet qui a été mis en place en 2007 et poursuivi en 2008 et 2009 a pour objectifs de :

- établir un inventaire taxonomique des espèces présentes dans plusieurs écosystèmes de l'aire de circulation (connue ou supposée) du virus et identifier les espèces résidentes porteuses des virus FVR et CHIK

- comparer la composition génétique des populations de *Culex pipiens quinquefasciatus*, le vecteur urbain du virus FVR et *Aedes albopictus*, un des vecteurs du virus CHIK commun aux deux régions

- rechercher l'origine phylogéographique des vecteurs et apprécier la dynamique évolutive des espèces potentiellement vectrices

- monter un "réseau de compétences pour l'étude des moustiques vecteurs" avec les entomologistes de l'Unité de Génétique Moléculaire des Bunyaviridae (AB Failloux), et les bioinformaticiens spécialistes de l'évolution de la Plateforme 4 de la Génopole (C Dauga) à l'Institut Pasteur à Paris

- favoriser les échanges entre ce réseau et les autres institutions dont les Instituts Pasteur du Réseau International (Institut Pasteur de Madagascar, le centre Pasteur du Cameroun) et l'IRD

- participer et/ou organiser des formations en génétique des populations et en phylogénie pour les Instituts du Réseau International

- à terme, il pourrait y avoir une mise en commun des informations écologiques et moléculaires recueillies sous forme d'une base de données.

L'équipe de Madagascar a pour mission de récolter et identifier les vecteurs, de réaliser des PCRs des gènes viraux, mitochondriaux et nucléaires.

Après la collecte des moustiques potentiellement vecteurs de la CHIK et de la FVR dans les six sites choisis à Madagascar en 2007, les activités de l'unité consistent, dans un premier temps en la mise au point des techniques pour l'amplification des gènes mitochondriaux et l'envoi de ces amplifiats à l'Institut Pasteur à Paris (IPP) en vue de l'analyse de l'origine phylogéographique des deux espèces de moustiques qui sont *Aedes albopictus* et *Culex quinquefasciatus*.

### Résultats

*1- Récolte et identification des vecteurs*

*Les Culex quinquefasciatus* ont été récoltés à : Carion (près d'Antananarivo), Antanimandry, Tsararano ambony et Tsararivotra (Mahajanga)

*Les Aedes albopictus* proviennent de : parc de l'Institut Pasteur de Madagascar (Antananarivo), Tsararano ambony (Mahajanga) et Analakininina (Toamasina)

*2- Mise au point des techniques PCR*

a. En 2008 la mise au point de la technique PCR pour amplifier les gènes mitochondriaux Ae ITS 1 et Ae ITS 2 pour *Ae albopictus* et Cx ITS1 et Cx ITS2 pour *Cx. quinquefasciatus* a été effectuée. Les gènes ont été amplifiés et envoyés à l'IPP pour séquençage.

b. 2009 a concerné la mise au point de l'amplification des microsatellites de *Cx. quinquefasciatus* et *Ae albopictus*. Le choix des amorces utilisées a été rectifié au vu des résultats obtenus. Concernant les locus de *Cx. quinquefasciatus*, nous avons obtenu les bandes aux tailles attendues. Par contre, 3 locus sur 6 ont été amplifiés aux tailles attendues pour *Ae albopictus*. La mise au point de la détection des 3 derniers locus est en cours.

### Perspectives

- Amplification des locus Ae alb B51, B52 et D2
- Mise en place effective du transfert de techniques de laboratoire (de l'IPP à l'IPM) prévu dans le projet.

**2- FIÈVRE DE LA VALLÉE DU RIFT DANS L'Océan Indien: VECTEURS IMPLIQUÉS DANS LA TRANSMISSION DE FVR EN ZONE SELVATIQUE (RIFT-OI), PROJET CRVOI**

IPM : - *Unité d'Entomologie médicale : L Tantely, L Andrianaivolambo, JC Rakotoniaina, E Tata, N Elissa*  
 - *Unité de Virologie : cf rapport annuel*

CIRAD  
 Association "Vahatra"  
 IRD - Montpellier  
 ONACSA - Grande Comores  
 FOFIFA-DRZV (Madagascar)

**Situation et objectif**

La Fièvre de la Vallée du Rift (FVR) est une arbovirose zoonotique causée par un Phlebovirus (Bunyaviridae) sévissant en Afrique continentale, à Madagascar et sur la péninsule arabe. Des épizooties surviennent à des intervalles de 5-15 ans en Afrique de l'Est.

Le virus de la FVR fut isolé pour la première fois à Madagascar en 1979 de pools de moustiques capturés pendant la saison pluvieuse dans la forêt du Perinet, district de Moramanga. Des épidémies humaines et animales survinrent dans les districts de Vavatenina et Fenoarivo Antsinanana en mars 1990 et aux alentours d'Antananarivo de février à avril 1991. Une étude sérologique longitudinale fut réalisée sur les ruminants domestiques de 1996 - 1998. Les résultats suggèrent une circulation à très bas bruit. Jusqu'à la nouvelle épizootie en 2008, aucune trace de circulation virale n'avait été détectée. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette ré-émergence : **i)** le virus a continué de circuler à bas bruit sur les ruminants sans causer d'épidémie ; **ii)** le virus est maintenu dans un cycle sylvatique (forestier dans le cas de Madagascar) par des réservoirs sauvages ; **iii)** le virus a été ré-introduit à partir de zones infectées par le biais d'importation de bovins virémiques, ou de vecteurs infectieux.

Par des suivis viro-sérologiques associés à celui des populations de vecteurs et de petits mammifères terrestres sauvages, ce projet permettra d'identifier les modalités de circulation et de persistance du virus en milieu agricole et forestier, d'établir un bilan épidémiologique de la maladie ainsi que de mesurer l'intensité de circulation virale, à Madagascar et aux Comores. L'analyse de risque régionale fournira les éléments qualitatifs et quantitatifs nécessaires à l'évaluation du risque d'introduction de la FVR dans les îles de l'Océan Indien et de sa dissémination et de proposer des mesures de surveillance adaptées.

**Les objectifs spécifiques**

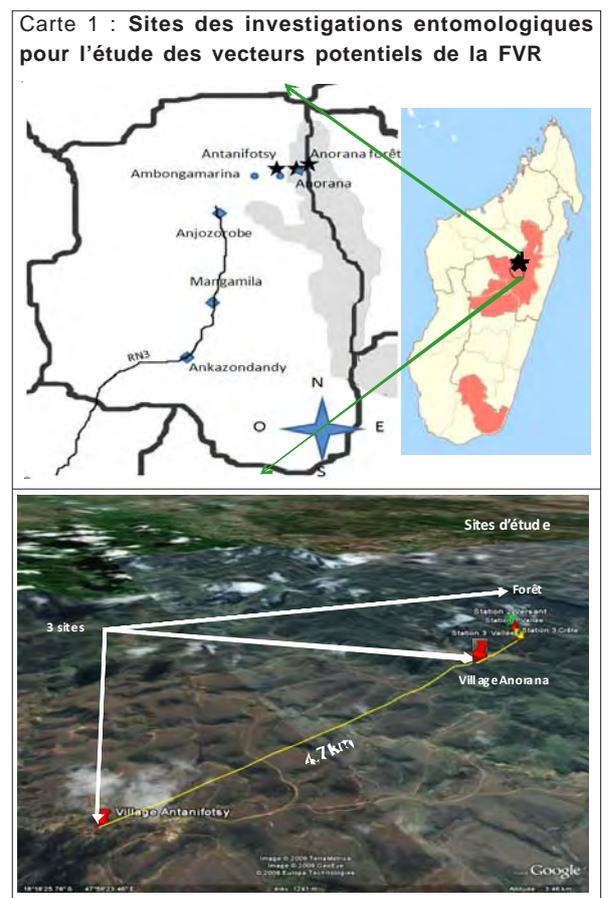
- évaluer l'intensité de la circulation virale et les périodes de circulation dans une zone pilote de Madagascar,

- **identifier les réservoirs sauvages et les vecteurs potentiels du virus de la FVR (VFVR) à Madagascar**

- établir un bilan épidémiologique aux Comores,
- identifier le/les modes d'introduction et de transmission potentiels aux Comores, et évaluer le risque d'endémisation de la maladie,
- quantifier le risque d'introduction du VFVR en provenance de l'Afrique, et de dissémination entre les îles,
- établir des recommandations pour la prévention et la lutte contre la maladie dans l'Océan Indien.

*L'étude entomologique sur les vecteurs potentiels du VFVR en zone selvatique fait partie du sujet de thèse de M Luciano Tantely.*

**Sites d'études**



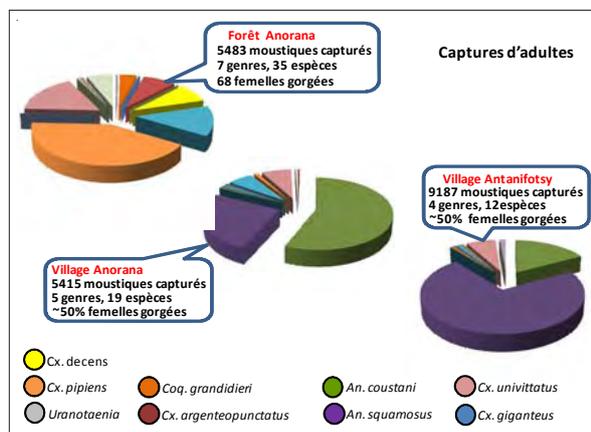
La zone pilote située dans la portion Est de l'île, dans le district d'Anjozorobe, lui-même adjacent d'un district où le premier isolement de VRVF fut réalisé et où la première épidémie ainsi que celle de 2008 furent reportées a été choisie pour mener les études. Cette région est composée d'une zone forestière où le virus pourrait se maintenir grâce à un réservoir sauvage, et d'une zone agricole, incluant marécages, rizières et terre cultivées. L'élevage de zébus est une source importante de revenus. Cette zone est donc particulièrement favorable au maintien du virus RVF et à sa ré-émergence.

L'étude entomologique s'est déroulée dans 3 sites différents : forêt d'Anorana, village d'Anorana (lisière de la forêt) et village d'Antanifotsy. Ces 3 sites se trouvent à 30 km au Nord-Est d'Anjozorobe dans la commune d'Ambongamarina, district d'Anjozorobe dans la région Analamanga. Cela a nécessité l'utilisation de différentes méthodes de captures, (pièges lumineux CDC, appât mis sous doubles moustiquaires, récoltes des larves, backpack).

## Résultats

a) Au total 20 085 moustiques adultes appartenant au moins à 37 espèces ont été récoltés. Tous les moustiques identifiés au cours de cette première année d'investigation sont déjà mentionnés lors des études des systèmes vectoriels des arboviroses à Madagascar.

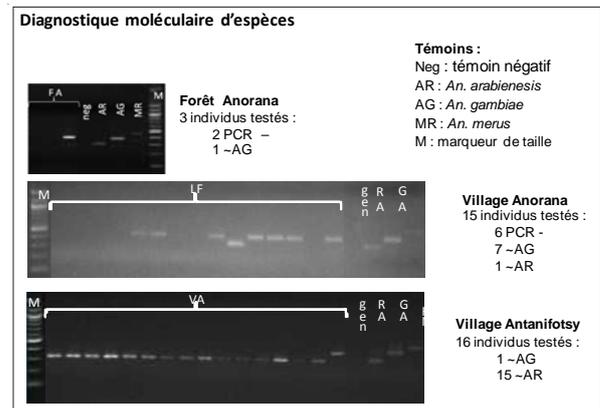
Parmi les moustiques capturés dans cette étude, les 10 espèces suivantes : *Cx. annulioris*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. antennatus*, *Cx. univittatus*, *An. squamosus*, *An. fuscicolor*; *An. coustani*, *Coq. grandidieri*, *Aedes circumluteolus* et *Mansonia uniformis*, représentent un intérêt particulier puisque déjà décrites infectées naturellement. Toutefois, l'implication de chacune de ces espèces dans la transmission du virus de la FVR n'est pas avérée puisque la majorité des lots trouvés infectés lors des premiers isollements viraux en 1979 étaient constitués de mélanges d'espèces, sauf le lot monospécifique de *Mansonia uniformis*.



b) Une densité élevée de *Cx. pipiens* a été observée en forêt. A notre connaissance, c'est la première fois que cette espèce est capturée en aussi grand nombre dans un tel endroit, cette espèce étant plutôt inféodée aux milieux domestiques et péri-domestiques. Ce résultat doit être pris en considération car cette espèce fut le vecteur principal du VFVR en Egypte : isollements viraux effectués à partir de la population naturelle et infestations expérimentales.

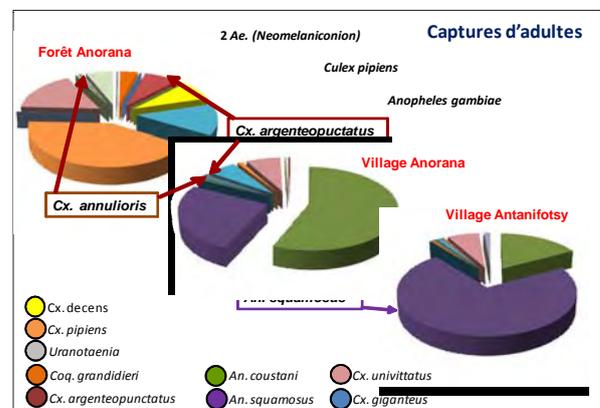
c) La présence d'*Anopheles gambiae sl*, et en particulier celle d'*An. gambiae ss*, dans les 3 sites d'étude à

une altitude supérieure à 1 200 m mérite d'être signalée : cette espèce est généralement trouvée en dessous de 1 000 m d'altitude. De plus, des études rapportent que la co-infection "*Plasmodium falciparum*.-VFVR" faciliterait la transmission du virus suite à la perturbation des barrières des glandes salivaires et l'augmentation de la capacité des vecteurs à transmettre les arboviroses. *An. gambiae* pourrait être considéré comme un vecteur potentiel de RVF dans cette zone.



d) Deux spécimens d'*Ae. (Neomelanicion) circumluteolus* ont été capturés en forêt. Ce résultat est intéressant à plusieurs titres. Il s'agit d'une espèce réputée être vectrice du VFVR en Afrique de l'Est. D'autre part, des espèces comme *Ae. mcintoshi* appartenant au même sous-genre peuvent transmettre le VFVR de génération en génération. Elles sont impliquées dans la survie du virus dans les œufs résistants à la dessiccation pendant les périodes inter-épidémiques. *Ae. circumluteolus* pourrait jouer ce rôle à Madagascar. Cette hypothèse reste à tester.

e) *An. squamosus* et *An. coustani* sont les espèces représentatives de la lisière de la forêt et du village d'Antanifotsy mais seul *An. coustani* a été trouvé naturellement infecté par le VFVR dans la littérature.



f) On constate la présence, d'une part, de *Cx. annulioris* dans la forêt et la lisière de la forêt et, d'autre part, celle d'*An. squamosus* à la lisière de la forêt et au

village d'Antanifotsy. Cette observation indiquerait que le village d'Anorana serait une zone de transition pour la circulation du virus d'un cycle selvatique à un cycle domestique ou vice versa. Cette hypothèse mérite d'être appuyée avec des études plus approfondies.

g) Il se trouve que *Cx. univittatus* est en abondance dans la lisière de la forêt et dans le village d'Antanifotsy. Cette espèce appartient au groupe *Neavei* dont *Cx. neavei* a été trouvé infectée naturellement et transmet expérimentalement le VFVR. Il serait intéressant de procéder à la dissection de l'appareil génital mâle pour confirmer l'espèce.

h) La présence d'un *Orthopodomyia sp* est à signaler, Cette espèce ressemble à *Orthopodomyia milloti* mais se distingue par la présence d'un spot noir séparant un annaux blanc apicale et basale au niveau du tarsomère 3 de la patte III, et d'un spot blanc à l'apex du tarsomère II de la même patte.

i) Enfin, des stades larvaires et nymphaux d'*Aedes interruptus* ont été récoltés dans un creux d'arbre de la forêt d'Anorana. Cette espèce n'a été décrite qu'au stade imaginal. Ces deux espèces méritent des études plus approfondies.

## VECTEURS DE FIÈVRES RÉCURRENTES À TIQUES

### LA LEPTOSPIROSE ET LES FIÈVRES RÉCURRENTES À TIQUES À MADAGASCAR : DÉPISTAGE ET ÉPIDÉMIOLOGIE

IPM : - Unité d'entomologie médicale : J Ratovonjato, JC Rakotoniana, E Tata

- Unité de la Peste : cf rapport annuel

IPP : M Cornet, E Ferquel

- CNR des *Borrelia*

L'Unité d'Entomologie médicale est impliquée dans le volet "fièvres récurrentes".

### Situation et objectif

Alors que *Ornithodoros moubata porcinius*, vecteur des fièvres récurrentes à *Borrelia duttoni*, a été retrouvé dans les Hautes Terres près d'Antananarivo et dans l'Ouest du pays, les bactéries elles mêmes n'ont pas été recherchées (Uilenberg, Hoogstral et coll. 1979, Roger, Ratovonjato et al. 2001).

Pour répondre à la question "**Existe-t-il une possibilité de transmission à l'homme des fièvres récurrentes à tiques à Madagascar**" nous rechercherons si les vecteurs des fièvres récurrentes du genre *Ornithodoros* existants à Madagascar sont porteurs de *Borrelia sp.* agents des fièvres récurrentes.

Pour atteindre cet objectif nous proposons de collecter les tiques du genre *Ornithodoros* dans les habitations et à proximité de celles-ci ainsi que dans les ter-

riers des rongeurs et les excavations naturelles. Toutes les tiques seront identifiées au niveau de l'espèce et les *Borrelia* seront recherchées par détection moléculaire. La diversité génétique des souches de *Borrelia* sera analysée.

Un objectif secondaire de ce projet sur les fièvres récurrentes est de rechercher sur les rongeurs capturés pour le volet leptospirose la présence d'autres espèces d'*Ornithodoros* (complexe d'espèces *Ornithodoros erraticus* par exemple) vecteurs des fièvres récurrentes et qui parasitent les rongeurs.

Ce projet a également comme objectif majeur de renforcer la collaboration entre l'Institut Pasteur à Paris, représenté par deux de ses CNRs, et un groupe de recherche, réunis dans l'unité de Biologie des Spirochètes et l'Institut Pasteur de Madagascar, représenté par deux de ses unités de recherche, l'Unité de la Peste et l'Unité d'Entomologie médicale et une Unité de l'IRD. L'échange de compétences entre les unités des Instituts Pasteur concernés d'une part, et une unité de l'IRD d'autre part, portera sur l'échantillonnage, les méthodes de capture et de prélèvements des rongeurs (méthodes à acquérir par le CNR leptospiroses), sur les méthodes de culture des leptospires et de détection des *Borrelia* dans les tiques (méthodes à acquérir par l'Unité Peste, l'Unité d'Entomologie médicale de l'IPM et l'équipe "rongeurs" du CBGP Montpellier). Ce projet pourrait déboucher à plus long terme sur une collaboration pour le dépistage de cas humains de leptospirose et/ou de fièvres récurrentes en mettant en place des programmes de surveillance active en collaboration avec les médecins locaux et le Centre de Biologie Clinique de l'IPM. Il pourrait également permettre de développer une nouvelle thématique de recherche à l'IPM sur les infections à spirochètes, en partenariat avec l'unité de Biologie des Spirochètes de Paris. Ce projet financé par l'Institut Pasteur à Paris (IPP) a démarré en 2008 pour une durée de 2 ans.

### Sites d'étude

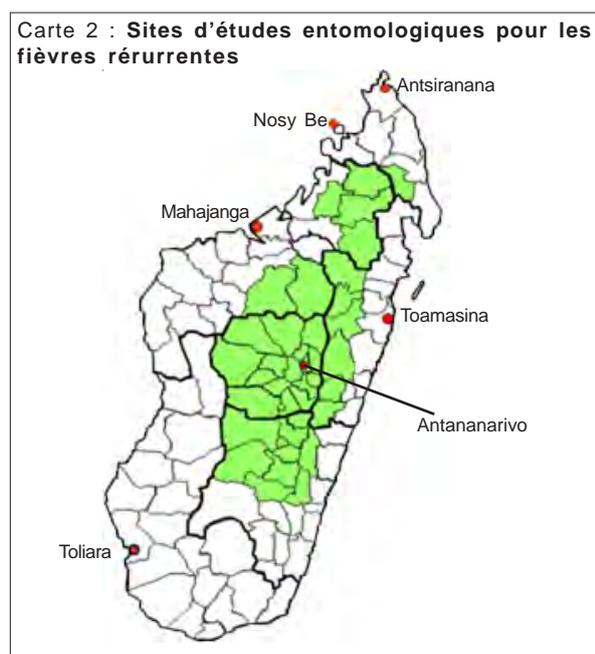
Tenant compte des informations recueillies auprès de l'APFM (Agence Portuaire Maritime et Fluviale de Madagascar) nous avons choisi les ports de Toamasina, Mahajanga, Toliara, Nosy-Be et Antsiranana.

Les ports de Toamasina, Mahajanga et Antsiranana commercent avec les Comores (dont Mayotte), la Réunion et Maurice. Les transports de marchandises entre Mahajanga et les Comores ne se font pas par containers, mais en vrac, et les contrôles sanitaires semblent très limités. À Toliara, les échanges avec l'Afrique du Sud sont en augmentation et une étude avait montré un taux de séropositivité pour la leptospirose chez l'homme

plus élevé que dans les autres sites investigués (Silverie, Monnier *et al.* 1968). Le site de Nosy-Be est très touristique et a été un des endroits où les premiers cas de dengue et de Chikungunya ont été répertoriés. Il constitue donc un point d'introduction possible des agents infectieux. Les échanges entre Madagascar, d'un côté, et l'île Maurice, La Réunion et l'Afrique du Sud, de l'autre ne se font qu'en containers. Ceux-ci sont chargés sur les lieux de production des marchandises et ouverts, non pas dans les ports, mais sur leur site final de destination. Dans ces cas, le lieu de diffusion des rongeurs concerne la superficie totale de l'île et non pas seulement les ports. Nous avons donc ajouté un site d'étude non côtier, que nous avons choisi à proximité de la capitale pour plus de faisabilité et également parce qu'il est particulièrement adapté pour le volet fièvres récurrentes.

Les études précédentes font état de la présence d'*Ornithodoros moubata porcinus* dans les Hautes Terres (à proximité d'Antananarivo) et dans l'Ouest du pays et ont été retrouvés dans le sol, sur l'homme, sur les porcs et dans les porcheries (Uilenberg, Hoogstral *et coll.* 1979, Roger, Ratovonjato *et al.* 2001, Uilenberg G, 2000, rapport de mission sur la Peste Porcine). Les sites de Mahajanga et d'Antananarivo sont donc appropriés. Les autres sites nous permettront d'apprécier la répartition et la diffusion de ces tiques sur l'île.

Au total, 6 sites d'échantillonnage ont été retenus : Toamasina, Mahajanga, Toliara, Nosy-Be, Antsiranana et Antananarivo.



## Résultats

En 2009, trois sites ont été investigués dont un sur la côte Est (Toamasina) et deux sur les Hautes Terres

Centrales de Madagascar (Mahitsy et Fenoarivobe).

Aucune tique n'a été collectée lors des deux séries de mission réalisées à Toamasina et à Fenoarivobe, tandis que la collecte réalisée à Mahitsy a permis de confirmer la présence d'*Ornithodoros moubata* trouvée pour la dernière fois dans ce même site en 2008. Les extractions d'ADN de *Borrelia* chez les tiques collectées à Mahitsy en 2009 ont été réalisées au sein de l'Unité d'Entomologie médicale de l'IPM et les extraits d'ADN obtenus ont été envoyés à l'IPP pour la détection de *Borrelia*.

## VECTEURS DE LA PESTE

### INVENTAIRE DES PUCES RÉCOLTÉES SUR LES PETITS MAMMIFÈRES EN FORÊT

IPM : *N Elissa*, *T Ramihangihajason*, *L Andrianaivolambo*

Lors de l'étude menée par l'équipe de l'Unité Virologie sur l' "Identification de réservoirs sauvages potentiels du virus de la Fièvre de la Vallée du Rift à Madagascar", les petits mammifères terrestres capturés ont été épouillés afin de récolter les ectoparasites. Les puces ont été confiées à l'Unité d'Entomologie médicale de l'IPM pour identification.

*L'identification des puces n'est pas définitive et est en attente de confirmation.*

	Octobre 2008		SF	SF	SE	SE	TR	TR	TR	TR	PGO	PGO	PV	PV	PGR	PGR	PO	PO	PP	PP	Pxi	Total
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F		
<i>Eliurus majori</i>	2		1	1											7	2						13
<i>Eliurus minor</i>		1																		1		2
<i>Eliurus sp</i>		1	1	3											1	1						7
<i>Gymnuromy roberti</i>			1	2																		3
<i>Hemicentetes semispinosus</i>		2		3																		5
<i>Microgale dobsoni</i>	1	3	3	5			1	1	10	5						1	8	4				42
<i>Microgale soricoides</i>									1													1
<i>Microgale thomasi</i>			1							1												2
<i>Nesomys rufus</i>	4	1		2																	1	8
<i>Oryzictes hova</i>			1	1																		2
<i>Rattus rattus</i>	24	47	9	7			1			3	1	1	7	5		1	1					107
<b>Total général</b>	<b>31</b>	<b>55</b>	<b>17</b>	<b>24</b>			<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>14</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>15</b>	<b>9</b>	<b>1</b>	<b>15</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>192</b>	

	Mars 2009		SF	SF	SE	SE	TR	TR	TR	TR	PGO	PGO	PV	PV	PGR	PGR	PO	PO	PP	PP	Pxi	Total
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F		
<i>Eliurus majori</i>														1								1
<i>Hemicentetes semispinosus</i>					1								6	7		1				1	3	19
<i>Microgale gymnorhyncha</i>		1																				1
<i>Microgale soricoides</i>										17	7		1									25
<i>Oryzictes hova</i>			1	1	1								1									4
<i>Rattus rattus</i>	18	29	4	1			1					2		8	11							74
<b>Total général</b>	<b>19</b>	<b>30</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>1</b>		<b>18</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>11</b>	<b>9</b>	<b>11</b>	<b>9</b>	<b>11</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>125</b>					

PGO : *Paractenopsyllus goodmani* SF : *Synopsylla fonquerniei*  
 PV : *Paractenopsyllus vauceli* SE : *Synopsylla estradei*  
 PGR : *Paractenopsyllus grandidieri* TR : *Tsaractenus rodhaini*  
 PO : *Paractenopsyllus oconnori* Pxi : *Pulex irritans*  
 PP : *Paractenopsyllus petiti* M : Mâles F : Femelles

## ELEVAGE DE VECTEURS EN INSECTARIUM

### 1- *Aedes albopictus*, *Anopheles arabiensis* ET *Culex quinquefasciatus*

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

L'IPM possède un insectarium où des colonies d'*Ae. albopictus* et *Cx. quinquefasciatus* sont élevées. Pour la production continue de nouvelles générations, les adultes sont gorgés soit sur lapin pour les *Aedes* soit sur coton imbibé de sang pour les *Culex*. Il nous a semblé indispensable de changer ce système de repas sanguins en vu de l'évolution des activités de recherche de l'Unité.

Dès le mois de mars, la mise en place d'un élevage d'*An. arabiensis* a été réalisée. L'élevage a démarré à partir de femelles gorgées capturées sur le terrain. La souche a été maintenue jusqu'à la sixième génération qui s'est brusquement éteinte au mois d'octobre. A cette date, une nouvelle souche a été ramenée au laboratoire pour redémarrer l'élevage. Actuellement, nous avons atteint la sixième génération. Les observations sont en cours pour nous permettre d'étudier la biologie de ce

vecteur en insectarium et de connaître les conditions optimales d'élevage.

En 2009, les repas artificiels sur membrane ont été réalisés avec succès pour les *Aedes* et les *Culex*. Les essais sont en cours pour *Anopheles* qui pour l'instant sont gorgés sur les bras de volontaires. Ceci permettra dans le futur de réaliser des infestations expérimentales.

### 2- *Xenopsylla cheopis* ET *Synopsyllus fonquerniei*

*T Ramihangihajason, C Rahaingosoamamitiana, L Andrianaivolambo, N Elissa*

Ces deux espèces sont élevées en insectarium depuis plusieurs générations. Si *X. cheopis* se développe sans problème aux conditions de l'insectarium, nous rencontrons quelques difficultés avec *S. fonquerniei*. L'étude qui sera menée par K. Kreppel en 2010 sur "l'effet du climat sur le développement de *X. cheopis* et *S. fonquerniei*" ainsi que les résultats de ses observations sur le terrain dans le cadre de sa thèse (cf rapport Unité Peste) nous permettront d'optimiser les conditions expérimentales pour l'élevage de cette espèce au laboratoire.

---

## ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

(voir page 81)

---

---

# PESTE

---

---

## RESPONSABLES SCIENTIFIQUES

- **L Rahalison**, Ph.D, chef de l'Unité Peste
- **M Rajerison**, Ph.D, adjointe, Unité de production de tests rapides - chef d'Unité p.i depuis novembre 2009

## SCIENTIFIQUES ASSOCIES

- **S Telfer**, PhD, Post-Doc
- **S Rahelinirina**, PhD, mammalogiste depuis septembre 2009
- **L Charrier**, scientifique, Volontaire International
- **V Richard**, médecin, chef de l'Unité d'Epidémiologie
- **M Ratsitorahina**, médecin, Cellule recherche clinique, Unité d'Epidémiologie
- **F Rakotomanana**, médecin PhD, Cellule d'Information Géographique
- **N Elissa**, chef de l'Unité d'Entomologie médicale
- **J Ratovonjato**, médecin, Unité d'Entomologie
- **V Andrianaivoarimanana**, **Y Raharilantsoa**, **K Kreppel**, doctorants

## COLLABORATIONS

### Locales

- **J Ranaivo-Rahamefy**, **H Ramiakajato** : Programme National de Lutte contre la Peste, Direction des Urgences et de la Lutte contre les Maladies Transmissibles / Service de Lutte contre les Maladies Endémiques / Division Peste - DULMT/SLME, Ministère de la Santé et du Planning Familial
- **SSPFD** d'Ambositra, d'Antsirabe II, de Betafo, d'Ihosal, de Mandoto, de Manjakandriana et de Moramanga
- **Direction Régionale de Santé (DRSPF)** des Régions Analamanga, Vakinankaratra, Haute Matsiatra
- **Département de Biologie Animale**, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo
- **Département de Géographie**, Faculté des Lettres, Université d'Antananarivo
- **Organisation Mondiale de la Santé**, Représentation Antananarivo
- **S Goodman**, Association Vahatra

### Extérieures

- **J Riehm**, **H Tomaso**, **W Splettstoesser**, Bundeswehr Institute of Microbiology, Munich, Allemagne
- **JM Duplantier**, **C Brouat**, **C Tollenaere**, CBGPIRD Montpellier
- **R Bianucci**, Département de Biologie Animale et de l'homme, Université de Turin, Italie
- **G Del Prete**, Dept Internal Medicine, University of Florence, Italie
- **I Bitam**, **L Belhabri**, Institut Pasteur d'Algérie
- **D Thi Ngoc Tuyet**, Institut Pasteur de Nha-Trang, Viet-Nam
- **Institut Pasteur à Paris** :
  - . **E Carniel**, **C Demeure**, Centre National de Référence Yersinia et Centre Collaborateur OMS Peste
  - . **F Nato**, **S Darteville**, Laboratoire Ingénierie des Anticorps
  - . **M Cornet**, **E Ferquel**, **M Garnier**, Centre National de Référence des Borrelia, Unité de Génétique Moléculaire des Bunyavirus
- **JC Shako**, Laboratoire de Référence du District de l'Ituri à Bunia, République Démocratique de Congo
- **D Rakotoarison**, **A Kinzelbach**, Malteser International, RDC
- **L Arntzen**, National Health Laboratory Service (NHLS), Johannesburg, South Africa
- **E Bertherat**, OMS/HQ/HSE/EPR, Genève
- **D Laffly**, **A Marquebielle**, Université de Pau de l'Adour (UPPA)
- **P Handschumacher**, Université de Strasbourg
- **M Begon**, **M Baylis**, **K Kreppel**, Université de Liverpool

## SOUTIENS FINANCIERS

- Gouvernement Malagasy
  - Organisation Mondiale de la Santé (APW)
  - IP Paris, Actions Concertées Inter-Pasteuriennes (ACIP)
  - Institut Pasteur de Madagascar
  - Agence Nationale de la Recherche (ANR)
  - Santé Environnement, Santé Travail (SEST)
  - Malteser International
  - The Wellcome Trust Research Career Development Fellowship in Tropical Medicine
- 

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

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

*Les activités de recherche se sont orientées en particulier vers les études sur la Santé et Environnement notamment sur des travaux sur les réservoirs et les vecteurs. Une collaboration avec l'Université de Liverpool pour des recherches sur la peste et le climat, un projet sur la sérologie canine de la peste ont été initiées en 2008. L'Unité Peste était également impliquée dans un projet sur la recherche des leptospires chez les rongeurs à Madagascar.*

*En terme de santé publique, l'année 2009 a été marquée à Madagascar par la diminution du nombre de cas déclarés et confirmés de peste et la diminution des Services de Santé de Districts notifiant des cas. Néanmoins, certains indicateurs de performance de programme ne se sont pas améliorés. Le financement du Laboratoire Central de la Peste, bien que limité, a permis d'assurer au minimum le diagnostic de routine, le ravitaillement en tests rapides des Centres de Santé de Base (CSB) et la supervision formative de l'utilisation des tests rapides au niveau de quelques régions.*

*Enfin, le Centre Collaborateur OMS peste a continué d'assurer des services concernant les programmes de l'OMS d'intérêt régional et mondial en matière de peste, notamment la confirmation du diagnostic biologique des prélèvements provenant de la République Démocratique du Congo (RDC) et de Libye.*

---

## DECOMPOSITION DU PROGRAMME

### CENTRE COLLABORATEUR OMS POUR LA PESTE

#### ACTIVITES DE RECHERCHE

- 1- Etudes de la réponse immunitaire lors d'une infection pesteuse : interaction hôte animal et *Yersinia pestis***
- 2- Etudes sur la diffusion de la peste à Madagascar : importance des déplacements des hommes et des rats avec leurs ectoparasites de l'échelle de l'habitat à celle du paysage ; détermination des facteurs de risque**
- 3- Le climat et la peste**
- 4- Sérologie murine et canine de la peste, évaluation d'un simple outil de surveillance de la peste**
- 5- Génétique et évolution de la résistance à la peste chez le rat noir (*Rattus rattus*)**
- 6- Modalités de diffusion spatiale de la peste à l'échelle des hameaux depuis 1955, étude pilote dans le district d'Ambositra**
- 7- Dépistage de la leptospirose chez les rongeurs à Madagascar**

#### ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE (voir page 62)

- 1- Activité du Laboratoire National de la Peste (surveillance de la peste humaine à Madagascar)**
- 2- Activités du Centre Collaborateur OMS Peste**

## ACTIVITES DE RECHERCHE

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

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

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

Lors d'une infection naturelle chez l'hôte animal (rongeur sauvage), le mécanisme de défense de l'hôte à l'infection pesteuse et le mécanisme d'échappement de *Yersinia pestis* au système immunitaire de l'hôte sont très peu exploités. Ce travail est en corollaire avec ce qui est fait chez l'homme en 2008 et entre dans le cadre de la thèse de doctorat en Sciences de Mme V Andrianaivoarimanana, inscrite à l'Université de Versailles St-Quentin-en-Yvelines.

#### Objectif

Il s'agit de mener des études sur les mécanismes de défense immunitaire chez le rat, principal réservoir de la peste en milieu rural à Madagascar. Les travaux en population naturelle consistent à suivre les réponses humorales, cellulaires et inflammatoires dirigées contre *Y. pestis* chez les animaux infectés expérimentalement.

#### Matériels et méthodes

- Des rats (*Rattus rattus*) capturés dans des zones d'endémies pesteuses de Madagascar (SSD Betafo) serviront de modèle animal. Une dose unique ou des doses croissantes de souche de *Y. pestis* ont été inoculées sur les rats testés négatifs en anticorps anti-F1 peste.

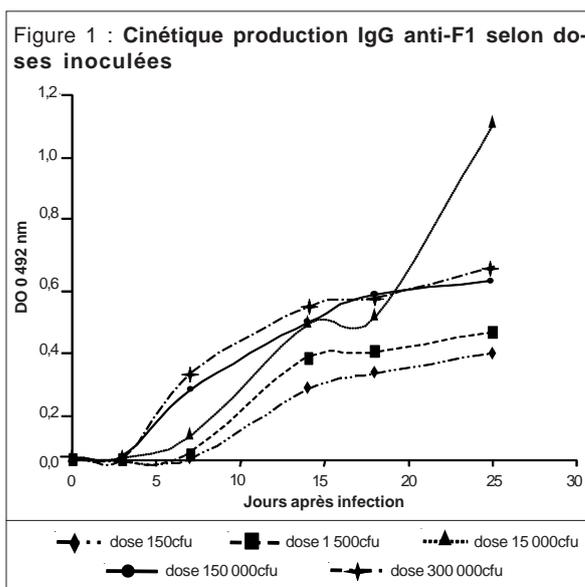
- Sérologie de détection d'IgM et d'IgG anti-F1 par ELISA pour suivre la cinétique de production d'anticorps plus particulièrement la séroconversion et le taux d'anticorps en fonction de la dose injectée.

#### Résultats

- 26 *R. rattus* issus de population naturelle de zone d'endémie pesteuse et testés négatifs en anticorps anti-F1 étaient infectés expérimentalement à une dose unique de 500 cfu de *Y. pestis*. Quatre rats servaient de témoins négatifs et ne recevaient pas de dose de *Y. pestis*. Les anticorps IgG anti-F1 sont suivis jusqu'à 1 mois après infection pour les 44 % (11/26) survivants. 81% (9/11) de ces survivants sont positifs en anticorps anti-F1 dont 5 à J8. Deux rats sont restés séronégatifs.

- 5 lots de 16 rats, de même origine, ont reçu des doses croissantes de *Y. pestis* (150, 1500, 15000, 150000

et 300000 cfu). Les anticorps IgG anti-F1 sont suivis jusqu'à J25 après infection. 22% (15/66) des survivants restaient séronégatifs. 54% (7/13) des survivants à dose faible et 100% (10/10) des survivants à dose forte ont fait une séroconversion. La réponse IgG apparaît à partir de J7, son taux augmente selon la dose reçue par l'animal (début et pente de la phase exponentielle) voir figure 1.



#### Perspectives

La réponse humorale de type IgM est en cours de mise au point, de même la caractérisation de la réponse immunitaire cellulaire et inflammatoire. Le rôle protecteur des anticorps sera évalué plus tard.

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

IPM : S Rahelinirina, M Ranjalahy, P Andriambolamaro, L Ralafiarisoa, M Ratsimba, N Randriananja, C Raharimanana, J Ratovonjato, M Rajerison, L Rahalison

Université d'Antananarivo :

- O Ramilijaona (Biologie Animale)

- Y Raharilantsoa, J Ramamonjisoa (Géographie)

IRD Mali : Y Papillon

IRD Montpellier : JM Duplantier, C Brouat

UPPA : D Laffly

Université de Strasbourg : P Handschumacher,

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

Deux thèses sont réalisées dans le cadre de ce projet : volet réservoir (Mme S Rahelinirina), et volet humain (Mlle Y Raharilantsoa) en co-tutelle avec

l'UPPA. Le volet vecteur est abordé par le Dr S Telfer de l'Université de Liverpool dans le cadre de sont post-doc.

Ce projet est effectué en collaboration avec l'IRD, accepté en décembre 2006 pour un financement par l'ANR et l'Université de Liverpool pour un financement par Wellcome Trust depuis août 2007.

Dans le but de mieux comprendre l'hétérogénéité de la répartition des cas humains de peste à l'échelle locale et régionale sur les hautes terres malagasy, et afin de mieux comprendre le mode de diffusion de la maladie, ce grand projet abordant la maladie sous tous ses angles a été initié en collaboration avec de nombreuses équipes. Les travaux réalisés ont été décrits depuis le rapport d'activités 2007.

## ▪ Volet humain

### Introduction

La peste est une maladie qui touche l'humanité depuis l'antiquité. Mais son histoire n'appartient pas au passé car cette maladie connaît un regain d'activité apparaissant sur presque tous les continents. Madagascar, n'échappe pas à ce phénomène, la peste se manifeste de façon épidémique dans le contexte urbain et circule sur les hautes terres rurales malagasy de façon endémique.

### Objectif

Partant des hypothèses émises au cours des travaux antérieurs, l'objectif de la thèse est d'identifier les indicateurs de risque pesteux sur les hautes terres malagasy en déterminant la maille élémentaire de fonctionnement de la maladie et les facteurs de sa mise en place.

### Méthodologie

Les activités effectuées concernent essentiellement la mise à jour des bibliographies et la préparation des informations de terrain en base de données exploitables. Les différentes opérations effectuées partent de la transcription, la mise en forme, la traduction, la saisie et le codage des informations des enquêtes de terrain, jusqu'à l'uniformisation et le nettoyage de fichier.

### Réalisation en 2009

A partir du juin 2009, Mlle Y Raharilantsoa a entamé sa 3<sup>ème</sup> année de thèse. Après plusieurs étapes de travail, 8 fichiers de la base de données terrain ont été terminés et prêts pour l'analyse. Au mois de novembre, Mr Handschumacher, membre du comité de thèse a pu apporter une aide dans le nettoyage et le codage des informations de la base de données de terrain selon la méthode d'analyse envisagée. Des informations permettant de mettre en exergue les facteurs de risque pesteux ont été organisés en fichier. D'autres ont été modifiées et organisées par la thésarde selon les instructions de

ce collaborateur.

## Perspectives

Depuis que la remise en forme des données est acquise, aux deux phases de terrain et de transcription de données font place l'analyse et la rédaction. L'exploitation des données notamment l'analyse, la cartographie et la rédaction de la thèse sont en cours.

## ▪ Volet réservoir

### Introduction

Les études dans le cadre de ce projet ont porté essentiellement sur le rat, principal réservoir de la peste dans les foyers ruraux à Madagascar. Les activités décrites ici constituent un complément du suivi des déplacements individuels de rongeurs après marquage.

### Objectifs

Pour mieux comprendre la dispersion des rats noirs à l'échelle de l'habitat, des études sur les déplacements des rats dans les maisons et les haies de sisal ont été effectuées depuis 2006. Le déplacement individuel de rongeurs dans le bas fond en haute saison de transmission est abordé dans le présent rapport.

### Matériels et méthodes

- Suivi des déplacements individuels de rongeurs par appâts marqués à la Rhodamine B dans 3 villages foyers pesteux du district de Betafo et dans 3 habitats : maisons (intérieur), haies de sisal (extérieur) et bas fonds (extérieur).

- Capture par piégeage des rats pendant 3 nuits consécutives 1, 2 et 3 mois après appâtage. Suivi des indicateurs peste : pour toutes les captures effectuées, les index pulicidiens, la séroprévalence des petits mammières, leur portage ainsi que des puces de *Y. pestis* sont déterminés.

- Prélèvements des poils pour détecter la Rhodamine B sous microscope à fluorescence (déplacement).

### Résultats

Confirment ce qu'on a obtenu en 2008

- Le rendement de piégage était plus élevé à l'extérieur dans les haies de sisal

- l'index pulicidien était faible. Les rats des maisons portaient plus de puces que les rats de l'extérieur. Les rats qui se sont déplacés portent les deux espèces de puces vectrice de la peste *Xenopsylla cheopis* et *Synopsyllus fonquerniei*

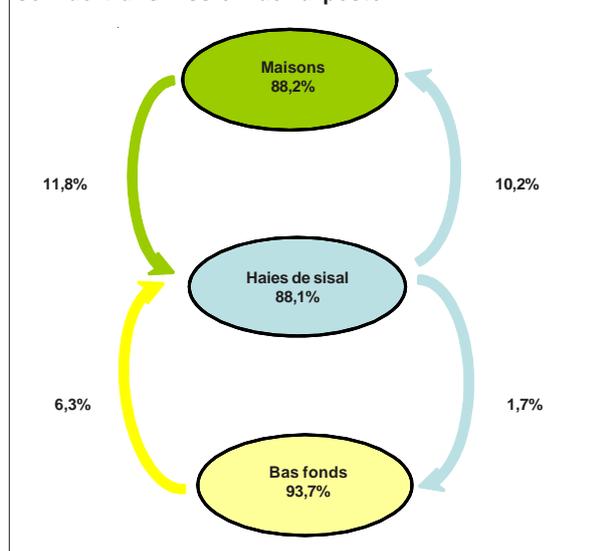
- aucune puce porteuse de *Y. pestis* n'était trouvée en haute saison

- des rats séropositifs (séroprévalence globale 6,7%) étaient trouvés dans les trois types d'habitat

- aucun rat porteur de *Y. pestis* n'était trouvé sur les 12% bandelette F1 positifs

- les rats semblaient se déplacer essentiellement entre les maisons et les haies de sisal en haute saison de transmission, la majorité restait au point d'appâtage (figure 2).

Figure 2 : Déplacements des rats noirs en haute saison de transmission de la peste



### Discussions et perspectives

Les rats noirs circulent entre les trois habitats. La haie de sisal est l'habitat de transition entre bas fonds et maisons. Les déplacements des rats par rapport au point d'appâtage ont conduit à conclure la sédentarité des rats noirs. Les trois milieux, maisons, haies de sisal et bas fonds seraient les habitats à risque et habitats clés de la circulation et de la pérennisation de la peste. Le mouvement des rats noirs de bas fonds vers les villages montre que ce réservoir joue un rôle important dans la diffusion de la peste de proche en proche.

#### ▪ Volet vecteur

##### Introduction

Le projet de recherche: "*Plague epidemiology in the heterogeneous rural landscapes of Madagascar : vectors and pathogen*", est financé par Wellcome Trust Research Career Development Fellowship in Tropical Medicine au bénéfice de S Telfer de l'Université de Liverpool, en collaboration avec l'IPM (2007-2011). Y est associée K Kreppel, de l'Université de Liverpool dans le cadre de sa thèse sur "*l'influence du climat sur l'épidémiologie de la peste à Madagascar*".

##### Objectifs

Parallèlement aux études chez l'homme et le réservoir, il s'agit :

- d'étudier la variation spatio-temporelle et le déplacement des puces
- d'évaluer la structuration génétique des vecteurs de la peste
- d'établir un modèle de transmission de la peste

### Méthodologie

Ce projet se concentre sur les deux espèces de puces vectrices de la peste *X. cheopis* et *S. fonquerniei* et consiste à :

- Déterminer selon la saison : **i**) la population totale des puces, **ii**) la distribution des puces entre les hôtes et les terriers et **iii**) l'état de reproduction des puces
- Déterminer les facteurs qui influencent la variation spatiale du nombre de puces (et des rats qui le supportent) entre **i**) villages et **ii**) entre milieux dans le même village
- déterminer les facteurs qui influencent le nombre de puces dans un terrier, notamment le microclimat des terriers.
- estimer la structuration de population de puces et leur taux de déplacement **i**) entre les différents hôtes (les différentes espèces des hôtes et la même espèce de l'hôte) ; **ii**) entre les différents terriers et **iii**) entre les différents milieux à l'échelle du village à l'aide de marqueurs microsatellites
- identifier les puces du terrier et du rat en utilisant les marqueurs microsatellites.

### Réalisations en 2008

- 5 missions sur le terrain (Betafo/Antsirabe II) : estimation de la densité de rats pour la prochaine mission, piégeage dans les 3 habitats sur 4 villages, identification des puces, identification et dissection des rats
- étude de la sensibilité des rats : détermination de la DL 50 par village, étude de la réponse immunitaire et numération de la formule sanguine NFS
- développement des microsatellites de puces : 12 microsatellites identifiés pour *S. fonquerniei* et environ 10 microsatellites identifiés pour *X. cheopis*.

### 3- LE CLIMAT ET LA PESTE

IPM : F Andriamiarimanana., C Rahaingosoamamitiana, M Ranjalahy, P Andriambolamaro, D Andrianimanana, L Ralafiarisoa, M Ratsimba, N Randriananja, C Raharimanana, S Rahelinirina, J Ratovonjato, M Rajerison, L Rahalison SSPFD Antsirabe II et Vakinankaratra, Direction de la Météorologie Nationale malgache  
Université de Liverpool, UK : K Kreppel, M Baylis, S Telfer, M Begon,

Ce projet mené par K Kreppel (Université de Liverpool) dans le cadre de sa thèse s'associe au programme de recherche de S Telfer financé par le Wellcome Trust Research Career Development Fellowship in Tropical Medicine. Il est effectué en collaboration avec l'IPM.

##### Introduction

La peste, maladie vectorielle, est essentiellement transmise à l'homme par deux espèces de puces de rat, *S. fonquerniei* et *X. cheopis* qui se développent dans les terriers des rats si les conditions sont favorables. Le

réservoir murin et l'abondance des puces pestigènes sont rythmés par les saisons. En effet, la saisonnalité de la peste à Madagascar pourrait être associée aux dynamiques des populations de rongeurs et de puces. Dans ce projet, nous allons essayer de suivre la variation annuelle de la température et de l'humidité sur le développement des puces en particulier l'espèce endémique *S. fonquerniei*.

### Objectifs

Ce projet vise à déterminer l'influence des conditions climatiques sur l'incidence et la transmission de la peste dans les écosystèmes spécifiques malagasy notamment les puces, et comporte les objectifs spécifiques suivants :

- établir l'importance de micro-climat (l'humidité et température) dans les terriers des rats sur l'écologie des vecteurs de la peste
- déterminer la connexion entre le micro-climat et le climat à la surface
- examiner l'importance de la composition du sol des terriers pour les puces.

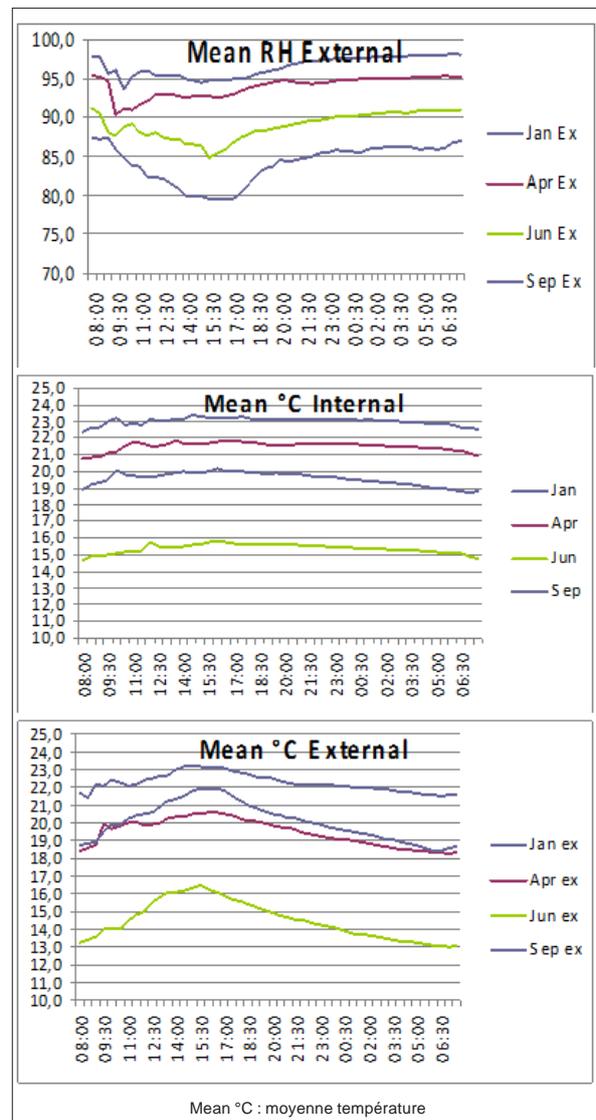
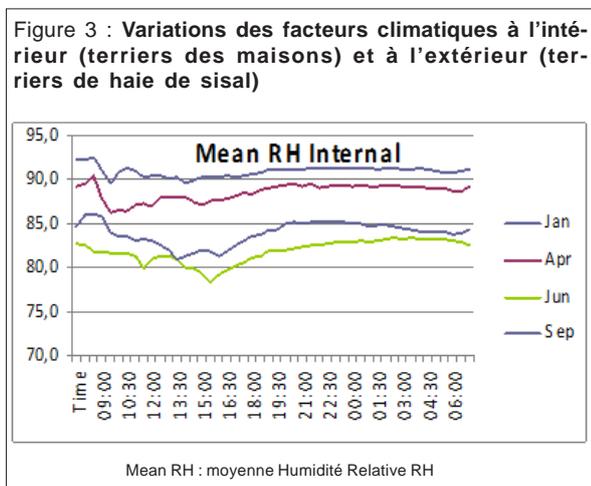
### Méthodologie

Mesure du microclimat des 64 terriers de rat dans 4 villages à chaque mission (janvier, avril, juin, septembre) dans les terriers, dans les maisons (intérieur) et dans le sisal (extérieur).

Dissection des puces collectées pour déterminer leurs stades de développement.

### Résultats

La population de puce fluctue probablement à cause des conditions climatiques. *S. fonquerniei* se trouvait plus fréquemment à l'extérieur tandis que *X. cheopis* à l'intérieur des maisons. Ceci pourrait être associé à l'humidité et la température. Les figures ci-dessous nous montrent la variation de l'humidité relative et la température à l'intérieur et à l'extérieur (figure 3).



### Perspectives

Les observations effectuées sur le terrain en 2009 sur le changement annuel du microclimat et aux dynamiques des populations de puces permettront d'analyser l'impact du climat sur ces vecteurs. Une étude au laboratoire sur la variation de la température et l'humidité sur les puces est en cours.

### 4- SÉROLOGIE MURINE ET CANINE DE LA PESTE, ÉVALUATION D'UN SIMPLE OUTIL DE SURVEILLANCE DE LA PESTE

IPM : M Rajerison, M Ratsitorahina, L Ralafiarisoa, V Andrianaivoarimanana, S Rahelinirina, S Telfer, L Rahalison SSPFD Antsirabe II, Betafo, Ihosy, Manjakandriana

Ce projet, initié en 2008, a pu bénéficier du financement du projet interne par l'Institut Pasteur de Madagascar.

## Introduction et objectif

Les marqueurs choisis dans la surveillance de la peste jusqu'à présent, la séroprévalence en anticorps anti-F1 chez les rongeurs et chez l'homme, ne sont pas forcément représentatifs du niveau de transmission de *Y. pestis* en raison de la susceptibilité de ces hôtes à cette maladie et donc de la létalité résultante. Les chiens, toujours en liberté dans les villages, ont des occasions de rencontrer le bacille de la peste soit en se faisant piquer par des puces infectées de rat, soit en se nourrissant de rats moribonds. Le chien lorsqu'il est en contact avec *Y. pestis* ne développe pas la peste, mais garde une trace sérologique pendant une année. Il s'agit d'évaluer un outil de surveillance de la peste en étudiant la corrélation entre la séroprévalence en anticorps de la peste chez les chiens et les rongeurs.

## Méthodes

Récolte de sérums de chiens et de rongeurs en parallèle dans des villages d'endémie (Inanantonana, Ambohitararay, Mazoto Ambohitromby et Mahajanga) ou en dehors de la zone d'endémie de peste (Zazafotsy et Sahambano). Tests ELISA et bandelette en parallèle des sérums pour la détection d'anticorps anti-F1. Les échantillons (autres que sérums) étaient testés avec la bandelette de détection d'antigène F1 et mis en culture lorsque l'Ag F1 était positif. Les indicateurs de risque pesteux chez les rongeurs (Séroprévalence, Index pulicidien, taux de portage de *Y. pestis*) étaient déterminés.

## Résultats

Le nombre d'animaux testés et la séroprévalence sont présentés dans le tableau ci-dessous

Tableau I : Séroprévalence en anticorps anti-F1 canine et murine

Sites	Séroprévalence	
	CHIENS % (Positifs/N)	RONGEURS % (Positifs/N)
Inanantonana Saison I	54% (12/22)	26% (11/42)
Inanantonana Saison II	48% (15/31)	28,57% (16/57)
Ambohitararay Saison I	50% (4/8)	11,42% (4/36)
Ambohitararay Saison II	56% (5/9)	18,51% (10/54)
Mazoto-Ambohitromby Saison I	95% (19/20)	0% (0/175)
Mahajanga Saison II	6% (1/17)	0% (0/43)
Zazafotsy	0% (0/19)	0% (0/35)
Sahambano	0% (0/9)	0% (0/52)

N : nombre échantillon  
Saison I : faible transmission de la peste à l'homme  
Saison II : porte transmission de la peste à l'homme

La séroprévalence en anticorps anti-f1 des chiens du village témoin comparé avec celle du village d'endémie montre une différence significative ( $p=0,036$ ). Une

corrélation est observée entre la séroprévalence des chiens et des rongeurs en saison II (coefficient de corrélation  $r=0,877$  ;  $ddl=1$ ).

Un suivi de la réponse sérologique des chiens (Ambohitromby et Inanantonana) en SI et SII est présenté dans le tableau II. Il y a une liaison statistiquement significative entre l'exposition des chiens à la peste pendant la période de faible et de forte transmission ( $\chi^2=5,44$  avec  $p=0,020$ ) et il y a moins de 5 chances sur 100 que la distribution résulte du hasard ( $p<0,05$ ).

Tableau II : Evolution du statut sérologique des chiens

Saison I	Saison II		
	P	N	Total
P	9	5	14
N	4	6	10
Total	13	11	24

## Conclusion

La corrélation entre la SP en anticorps anti-F1 des chiens et des rongeurs en SII peut justifier l'utilisation du chien comme animal sentinelle dans la surveillance de cette maladie. Les rongeurs positifs en anticorps anti-F1 lors de la capture de la saison II sont ceux qui survivent à l'infection de la SI, de plus la durée de vie des rongeurs en condition naturelle est inférieure à 1 an. Des chiens ont séroconverti (négatif-positif) dans les deux sites suivis i.e. infection en même temps que les rongeurs SII séropositifs. Les chiens nouvellement infectés indiquent le passage du bacille dans le site avant le prélèvement. Dans ce cas, un suivi des villages dans lesquels une séroconversion (négatif-positif) a été détectée sans qu'aucun cas de peste humaine n'ait encore été signalé, est important pour confirmer le caractère prédictif de ce marqueur.

## Perspective

Confirmation de la persistance de l'anticorps et étude de la transmission de mère enfant de l'anticorps anti-F1 chez le chien à envisager (intérêt de la connaissance du statut sérologique des chiens de bas âge).

La publication de ces résultats est en cours.

## 5- GÉTIQUE ET ÉVOLUTION DE LA RÉSISTANCE À LA PESTE CHEZ LE RAT NOIR, *RATTUS RATTUS*

IPM : M Ranjalaly, M Rajerison, L Rahalison  
IRD : C Tollenaere, C Brouat, JM Duplantier

Cette étude est réalisée dans le cadre d'une collaboration entre l'IPM et l'IRD de Montpellier. Elle fait l'objet de la thèse de Mlle C Tollenaere soutenue en décembre 2009.

## Contexte

Le rat noir (*Rattus rattus*) est le principal réservoir de la peste dans les villages des Hauts Plateaux malgaches et cette espèce est beaucoup plus résistante à la peste sur les Hauts Plateaux de Madagascar (foyer pesteux) qu'à basse altitude (zone sans peste). Cette résistance, résultat de l'évolution des populations en réponse à la pression exercée par la maladie, a probablement des conséquences très importantes sur le maintien à long terme de la peste à Madagascar. L'objectif est de déterminer des marqueurs génétiques liés à la résistance permettant d'évaluer la répartition actuelle de la résistance à la peste chez *R. rattus*.

## Méthodologie

Des individus de phénotype différent, ainsi que les populations des hauts plateaux et des zones de basse altitude, sont comparés pour des marqueurs génétiques: **1)** par une approche gène candidat **2)** par une approche génomique par des marqueurs AFLP. De façon à caractériser le phénotype des individus et à étudier le déterminisme génétique de la résistance, des infestations expérimentales et des croisements de rats résistants et sensibles sont réalisés sur des rats sauvages.

## Résultats

Des populations de rat noir se seraient d'abord installées dans les régions côtières, s'étendant ensuite sur les hauts plateaux centraux. Des infections et croisement ont permis d'étudier le phénotype de résistance et sa transmission à la descendance. La différence de niveau de résistance entre zone de peste et zone sans peste a ainsi été confirmée et étendue à d'autres localités. Des approches gènes candidats et génomiques ont conduit à l'identification de marqueurs génétiques potentiellement sous sélection divergente entre zone de peste et zone sans peste, et/ou associés à l'issue de d'infections expérimentales par la peste.

## 6- MODALITÉS DE DIFFUSION SPATIALE DE LA PESTE À L'ÉCHELLE DES HAMEAUX DEPUIS 1955, ÉTUDE PILOTE DANS LE DISTRICT D'AMBOSITRA

Université de Pau : *D Laffly, A Marquebielle*  
IRD Montpellier : *Duplantier JM*

IPM : *L Rahalison, M Rajerison, S Rahelinirina*

Cette étude menée par Melle A Marquebielle dans le cadre de son Master 2 à l'Université de Pau est réalisée en collaboration avec l'IPM.

## Objectif

Réaliser une base de données cartographiques à l'échelle du hameau c'est-à-dire géo-localiser tous les

hameaux où des cas de peste ont été déclarés en prenant comme modèle le district d'Ambositra où des cas humains ont été recensés depuis 1955, et ce afin d'établir une cartographie des indicateurs de diffusion du risque pesteux.

## Méthodologie

- Utilisation d'images à très haute résolution spatiale (image Spot 5 d'une résolution spatiale de 2.5 m).
  - Géo-localisation de hameaux de cas confirmés de peste qui reposera sur une interprétation visuelle des images.
  - Dessin de l'espace, relevé du système agricole sylvo-pastoral organisé autour des hameaux.
  - Mesure de la "complexité" du relief par un opérateur morphologique, mesures de variabilité locale telle que la variance, par exemple.
  - Liens avec les indicateurs de risque de diffusion pesteuse selon la topographie (légèrement ondulée ou fortement accidentée).
  - Traitement d'images : au cours d'une classification supervisée ou par segmentation.
  - Organisation du paysage en un ensemble de localisations ponctuelles à risque déconnectées les unes des autres.
  - Analyses généralisées à l'ensemble de la couverture des images et/ou mosaïque d'images nécessaires pour couvrir l'aire probable de la maladie.
- ### Réalisations en 2009
- Traitement d'images et analyse de données en cours.

## 7- DÉPISTAGE DE LA LEPTOSPIROSE CHEZ LES RONGEURS À MADAGASCAR

IPM : *S Rahelinirina, L Ralafiarisoa, C Raharimanana, M Rajerison, L Rahalison*  
SSD Antsiranana, Mahajanga, Moramanga, Toliary, Toamasina

IPP : *M Cornet, E Ferquel*

IRD Montpellier : *JM Duplantier*

Financement : *ACIP*

Sous la coordination scientifique de M. Cornet, Unité de Biologie des Spirochètes de l'IPP, cette étude entre dans le cadre du projet sur "*La leptospirose et les fièvres récurrentes à tiques à Madagascar : Dépistage et épidémiologie*". Elle voit la collaboration entre une unité de l'Institut Pasteur à Paris, deux unités de l'Institut Pasteur de Madagascar et une unité de l'IRD, collaboration fondée sur un échange de compétences en mammalogie, en microbiologie et en entomologie. Elle permettra de mettre en place des activités sur la thématique des infections à spirochètes à l'Institut Pasteur de Madagascar.

Le volet sur les fièvres récurrentes est décrit dans le présent rapport par l'Unité d'Entomologie de l'IPM.

### **Introduction**

La leptospirose est une infection qui n'a quasiment jamais été décrite à Madagascar. Seuls de très rares cas humains et animaux ont été rapportés il y a déjà plusieurs décennies. La leptospirose existe pourtant à l'état endémique dans les pays avoisinants, et toutes les conditions environnementales nécessaires à sa transmission semblent réunies à Madagascar. Les humains sont infectés par contact direct ou indirect avec l'urine des animaux infectés. Les petits mammifères sauvages comme les rongeurs et les musaraignes servent de réservoirs de leptospirose. De ce fait, une étude a été menée à Madagascar depuis janvier 2008.

### **Objectifs**

Confirmer, dépister la leptospirose chez les rongeurs sauvages par divers diagnostics (culture, ELISA, PCR).

### **Matériels et Méthodes**

#### ***Echantillonnage***

- les rongeurs étant les principaux réservoirs connus de leptospirose, des piégeages dans différents sites notamment portuaires, de Madagascar ont été effectués.

En 2009, deux sites ont été échantillonnés (Toliara et Toamasina). Dans chaque site, les captures de micromammifères ont été réalisées dans la ville (maisons, port et abattoir) et dans le village aux alentours (maisons et champs de cultures). Deux types de pièges ont été utilisés : Sherman mieux adapté à la capture des souris et des musaraignes et piège grillagé (BTS) plus adaptés aux rats. Les appâts utilisés dans les pièges étaient du poisson séché et de l'oignon. La durée de piégeage est de 3 nuits consécutives

Les animaux capturés étaient autopsiés. Les reins, urines (lorsque possible) et sérums de chaque animal étaient prélevés.

### ***Diagnostic de la leptospirose***

Les leptospires étaient recherchés :

- par culture de rein dans un milieu spécifique EMJH avec ATB. Les cultures suspectées étaient repiquées dans un nouveau milieu et envoyées au CNR/IPP pour l'identification. Les cultures étaient suivies par semaine pendant 2 mois avant de conclure la positivité ou négativité de la présence des leptospires. Pour le suivi, une goutte a été montée entre lame et lamelle et observée au microscope à fond noir. Les cultures contaminées étaient filtrées avec un filtre de 0,02µm dans un nouveau milieu de culture avec ATB

- par PCR (CNR leptospiroses, Unité de Biologie des Spirochètes, Institut Pasteur à Paris) : les ADN étaient extraits à l'IPM à partir d'un fragment de rein d'environ 25 g à l'aide du kit d'extraction Qiagen. L'extraction a été faite à l'IPM et les extraits d'ADN étaient envoyés à l'IPP pour la PCR.

La séroprévalence avec détermination des sérogroupes chez les rongeurs était également déterminée (IPP).

### **Résultats**

Au total, 100 individus ont été capturés durant les deux sessions de piégeages en 2009. Quatre différentes espèces ont été capturées *Mus musculus MM* (n=23), *Rattus norvegicus RN* (n=44), *Rattus rattus RR* (n=27) et *Suncus murinus SM* (n=6).

Le test ELISA et le PCR ont permis d'analyser la présence de *Leptospira* chez les rats. Six échantillons ont été trouvés positifs en PCR et en test sérologique dans les sites non portuaire et portuaires. Les analyses détaillées sont en cours.

---

## **ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE**

(voir page 62)

---

---

# TUBERCULOSE ET MYCOBACTERIES

---

---

## RESPONSABLES SCIENTIFIQUES

- **V Rasolofo Razanamparany**, scientifique, chef de l'Unité
- **H Ramarokoto**, médecin, chef du Centre National de Référence des Mycobactéries

## CHERCHEURS ASSOCIES

- **V Richard, V Raharimanga, M Ratsitorahina, R Ratovoson**, médecins, Unité d'Epidémiologie
- **N Rakotosamimanana**, étudiant en thèse, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo et de Paris 6
- **OHA Said Tohir**, étudiant en thèse, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo
- **R Rasoahantirahisoa**, étudiante DEA, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo

## COLLABORATIONS

### **Prestataires**

- **B Rakotondrasoa, DS Rakotomananjahary** médecins, Association des Médecins d'Exercice Libéral (AMEL)

### **Locales**

- **G Ranjalahy, M Rakotonjanahary, A Rakotoarisaonina**, Programme National Tuberculose, Service de Lutte contre la Tuberculose et la Lèpre (SLTL) - Ministère de la Santé Publique
- **B Ravalison, E Ranaivoson, J Razananirinomenjanahary**, Dispensaire Antituberculeux d'Antananarivo (DAT), Institut d'Hygiène Sociale
- **HH Rakotoarimanga et coll.**, CSBII Isotry Central
- **H Raobijaona et coll., BP Ramanantenasoa**, Service de Pédiatrie de l'Hôpital de Befelatanana
- **O Raharimalala et coll.**, Hôpital Pédiatrique d'Ambohimandra,
- **N Ravelomanana et coll.**, Hôpital Mère-Enfant de Tsaralalana
- **J Hoffmann, B Contamin**, Fondation Mérieux

### **Internationales**

- **B Gicquel**, Unité de Génétique Mycobactérienne, Institut Pasteur à Paris
- **O Neyrolles**, Département Mécanismes Moléculaires des Infections Mycobactériennes, IPBS - CNRS UMR 5089, Toulouse
- **P Brodin et collaborateurs**, Equipe Avenir Inserm, Institut Pasteur de Korea, Séoul
- **N Rastogi et coll.**, Laboratoire de recherche sur la tuberculose et les mycobactéries, Institut Pasteur de Guadeloupe
- **L Abel, JL Casanova**, Laboratoire de Génétique Humaine des Maladies Infectieuses, INSERM U550, Hôpital Necker Paris
- **R Brosch, C Demangel**, Unité de Génétique Moléculaire Bactérienne, IP Paris
- **C Sola et coll.**, Institut de Génétique et Microbiologie, Orsay
- Fondation Mérieux
- **Partenaires du projet ETMATACAP** : **H Engers, A Assefa et coll.**, Armauer Hansen Research Institute (AHRI), Addis Ababa, Ethiopie ; **G Kibiki**, Kilimandjaro Medical Research Centre (KMRC), Moshi, Tanzanie; **P Dubois**, ImmunoVac Consulting, Belgique ; **M Doherty**, SSI Danemark

### **SOUTIENS FINANCIERS**

- Gouvernement Malgache (Global Funds)
- DAI-IP/ Programmes Transversaux de Recherche
- EDCTP
- TDR/OMS
- Institut Pasteur de Madagascar

*La tuberculose (TB) à Madagascar est toujours un problème de santé publique avec, en 2009, environ 25 000 cas détectés par le Programme National Tuberculose (PNT - Ministère de la Santé et du Planning Familial). La co-infection par le VIH est <1% chez les patients tuberculeux.*

*L'Unité des Mycobactéries est composée du laboratoire de recherche et du laboratoire des mycobactéries. Ce dernier fait partie du Centre National de Référence des Mycobactéries. Le programme sur les mycobactéries, mené en collaboration avec le PNT, comprend le diagnostic de la tuberculose, des activités de santé publique et des recherches. Les activités de diagnostic sont maintenant réalisées dans le laboratoire NSB3. Le programme de recherche de l'Unité comprenait en 2009 trois principales activités : l'étude sur la corrélation entre la diversité génétique et la virulence des souches cliniques du bacille tuberculeux (PTR 253), la participation à l'étude sur la susceptibilité génétique aux infections mycobactériennes (PTR 202) et le projet pour le renforcement des capacités pour la réalisation de futurs essais vaccinaux, financé par l'EDCTP (ETMATACAP).*

---

## **DECOMPOSITION DU PROGRAMME**

### **ACTIVITES DE RECHERCHE**

- 1- Contribution des îlots génomiques acquis par transfert horizontal à la diversité des isolats cliniques de *Mycobacterium tuberculosis* et association aux caractères de virulence (PTR 253)**
- 2- Susceptibilité génétique à la tuberculose (PTR 202)**
- 3- Renforcement de capacités pour les essais cliniques vaccinaux en Ethiopie, Tanzanie et Madagascar (ETMATACAP)**
- 4- Outils de diagnostic de la tuberculose**

### **ACTIVITES DU LABORATOIRE NATIONAL DE REFERENCE DES MYCOBACTERIES (voir page 73)**

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

# ACTIVITES DE RECHERCHE

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

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

IPP : B Gicquel

IPK : B Brodin

IPBS-CNRS : O Neyrolles

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

### Introduction

Des souches *M. tuberculosis* multirésistantes (MDR) et extrêmement résistantes (XDR) aux traitements thérapeutiques standards émergent dans plusieurs régions du monde. La découverte de nouveaux antituberculeux s'avère donc nécessaire pour lutter contre ces types de tuberculose.

Par ailleurs, on sait que seulement 10% des sujets infectés par *M. tuberculosis* développent la tuberculose. De nombreux facteurs contribuent au développement de la maladie : la co-infection avec le VIH, les conditions de vie, le sexe, les facteurs génétiques de l'hôte mais aussi de l'agent pathogène infectieux. La détermination des facteurs de virulence de *M. tuberculosis* devrait permettre d'identifier des cibles pour de nouveaux médicaments et vaccins.

### Objectifs

Bien que le génome de *M. tuberculosis* semble assez conservé, les souches pathogènes ont co-évolué avec leur hôte et se sont adaptées aux aléas de leur environnement. Cette adaptation des bactéries peut se faire soit par l'acquisition de nouveaux caractères issus de mutations spontanées dans le génome, soit par acquisition de nouveaux caractères à partir d'échanges de matériel génétique d'un organisme à un autre comme le transfert horizontal de gène (HGT). Becq et al. (*Mol Bio Evol* 2007, 24 : 1861-71) ont démontré que les HGT ont contribué à l'évolution du génome des bactéries du complexe *M. tuberculosis* (MTC) : des séquences d'ADN différentes de l'ensemble du génome des MTC et ayant des similarités avec celles d'autres bactéries ont été observées dans quelques souches pathogènes pour l'homme. Ces séquences d'ADN semblent être regroupées en modules entrant certainement dans une même fonction : les îlots génomiques. Ceux-ci pourraient avoir un intérêt non seulement dans la survie de la bactérie

mais aussi dans la relation des bactéries pathogènes avec leur hôte. Leur rôle dans la diversité et la virulence des souches du complexe *M. tuberculosis* demeure aujourd'hui presque inexplorée.

L'objectif de ce programme est de mieux comprendre la relation entre la diversité génétique des souches cliniques de *M. tuberculosis* et les caractères de virulence. De manière plus spécifique, il s'agit de rechercher s'il existe un polymorphisme dans les îlots génomiques acquis par HGT chez des souches cliniques isolées de patients malgaches, de faire la corrélation avec les données cliniques et épidémiologiques, et de caractériser quelques îlots choisis par des études fonctionnelles.

### Méthodologie

Cette étude consistait à typer par spoligotyping 186 isolats cliniques du complexe *M. tuberculosis* provenant de 120 patients tuberculeux pulmonaires et 66 extrapulmonaires, puis d'identifier les spoligotypes obtenus sur le site du SITVIT et dans la banque SpolDB4 (Brudey et al, 2006).

Pour déterminer les éventuels polymorphismes de taille des îlots génomiques chez ces souches cliniques par rapport à la souche de référence *M. tuberculosis* H37Rv, les 48 îlots génomiques identifiés comme étant spécifiques du complexe *M. tuberculosis* (Becq et al., 2007) ont été amplifiés par PCR, en utilisant la Taq polymérase haute fidélité TAKARA. Les îlots polymorphes ont été séquencés (GenoScreen) et analysés sur GenAllysCarbon 2.8 (<http://software.cng.fr/>) par comparaison à une souche de référence (H37Rv ou CDC1551).

A l'issue du criblage des îlots génomiques dans les différentes souches cliniques, la caractérisation d'un îlot génomique non polymorphe i.e. retrouvé chez toutes les souches a été faite à l'IPP. Des outils génétiques, notamment l'utilisation du modèle *E. coli* et *M. smegmatis*, ainsi que la détermination de phénotypes mutants ont été utilisés pour caractériser les différents gènes de l'îlot afin d'en définir la fonction et le fonctionnement.

L'IPK a analysé les mutants obtenus ainsi que les souches cliniques avec le modèle macrophage *in vitro* (survie et multiplication, sécrétion de cytokines, "trafficking" dans le macrophage).

### Résultats

Les isolats cliniques de *M. tuberculosis* ont pu être classés en 10 familles différentes selon leur spoligotype. Cependant, 6 spoligotypes n'ont pas été retrouvés dans le SITVIT.

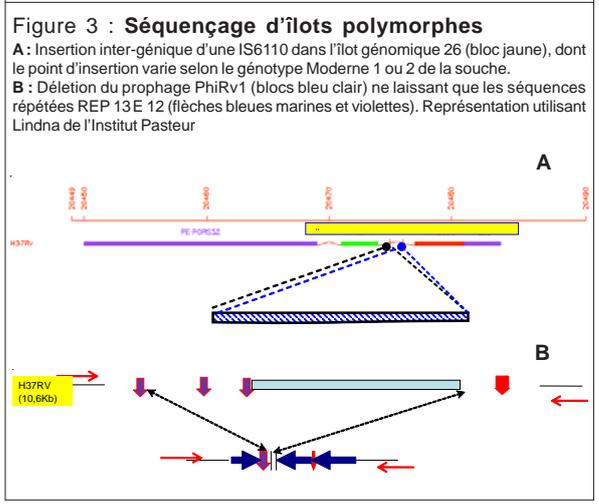
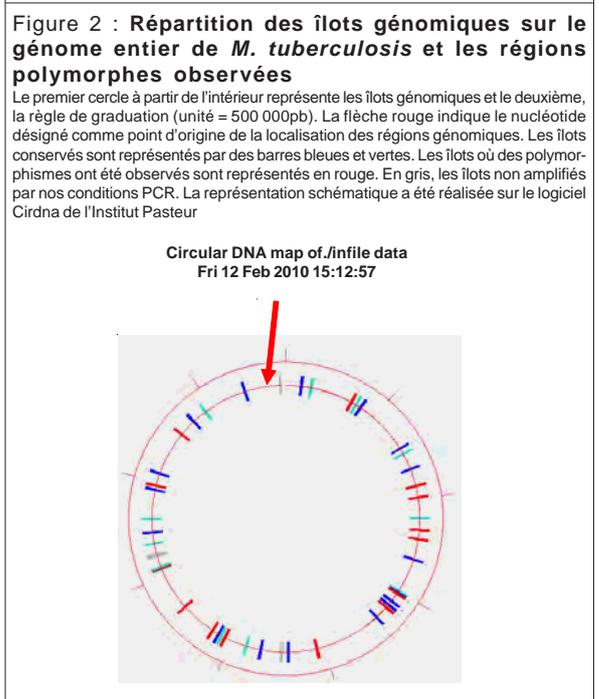
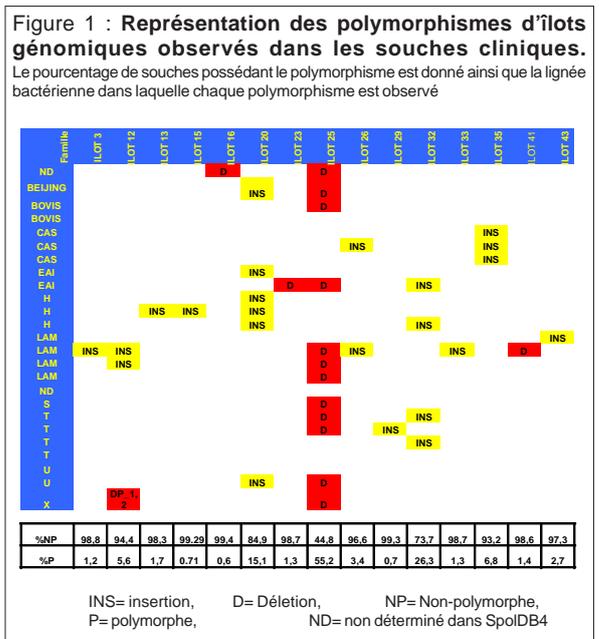
A ce jour, 45 sur les 48 îlots génomiques ont été criblés, trois n'ayant pas pu être amplifiés avec les conditions standardisées utilisées. Trente sont conservés chez toutes les souches cliniques analysées, alors que 15 îlots génomiques présentent des polymorphismes à des fréquences différentes (figures 1 et 2). Par ailleurs, il semble que le polymorphisme de ces îlots génomiques soit associé à leur spoligotype (figure 1). Ces polymorphismes sont soit des insertions soit des délétions d'ADN par comparaison avec la souche de référence H37Rv. Après séquençage, les nucléotides insérés correspondent à des insertions intra ou inter-géniques d'IS altérant à chaque fois la phase de lecture des gènes touchés (figure 3A), alors que les délétions peuvent être partielles ou totales. La délétion de l'îlot génomique Rv1572c-Rv1587c (10,6kb) qui correspond au phage PhiRv1 est le polymorphisme le plus fréquemment observé dans les souches cliniques (environ 55% des souches ; figure 1). L'utilisation d'amorces permettant de séquencer des régions internes à l'îlot a permis de démontrer que pour certaines souches, le phage n'est pas délété mais se trouve juste déplacé à un autre locus dans le génome. La présence ou non de ce prophage est lié au spoligotype des souches. Cet îlot semble notamment être absent dans toutes les souches Beijing (n= 21), la souche la plus répandue actuellement dans le monde et où l'on retrouve le plus de résistance aux anti-tuberculeux (figure 3B).

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

### Conclusion et perspectives

Le séquençage des îlots polymorphes semble confirmer l'existence d'une corrélation entre polymorphisme des îlots génomiques et génotype des souches et le rôle de ces îlots dans l'évolution des bactéries de la tuberculose.

Une corrélation entre les résultats des études fonctionnelles, le polymorphisme des souches cliniques et les données cliniques /épidémiologiques sera recherchée dans le but d'identifier les îlots qui pourraient jouer un rôle dans la "virulence" des souches de *M. tuberculosis*.



## 2 - SUSCEPTIBILITÉ GÉNÉTIQUE À LA TUBERCULOSE

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

Prestataires : B Rakotondraso, DS Rakotomananjahary  
CDT : médecins du DAT et du CSBII Isotry Central  
Services de Pédiatrie de HJRB, Ambohimandra, Tsaralalana, CENHOSOA

INSERM U550 : L Abel, JL Casanova

IPP : R Brosch, C Demangel

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

### Introduction

La recherche de nouvelles voies pour combattre la tuberculose est nécessaire; entre autres, l'identification de facteurs génétiques de l'hôte contrôlant la réponse à l'infection est fondamentale. Ceci permettra l'approfondissement des connaissances en immuno-pathologie, entraînant ainsi des conséquences au niveau médical comme le diagnostic moléculaire, le développement de nouveaux vaccins ou de traitement immuno-modulateur.

### Objectifs

L'objectif général de ce projet est de déterminer les bases moléculaires de la prédisposition génétique de l'hôte à la tuberculose, c'est-à-dire d'identifier les gènes, et les polymorphismes de ces gènes, contrôlant la réponse des sujets infectés par *M. tuberculosis* et le développement de la maladie.

Il s'agit d'une large étude familiale conduite à Madagascar, par une stratégie combinant une approche de génétique mendélienne (étude approfondie de quelques familles particulières) et de génétique épidémiologique (étude de nombreux polymorphismes génétiques dans l'ensemble des familles recueillies). Une étude portant sur la génétique mendélienne des formes sévères de TB (méningite, miliaire) chez les enfants sera aussi faite. Par ailleurs, ce projet permettra d'étudier la tuberculose en milieu pédiatrique.

Par ailleurs, il existe vraisemblablement une forte interaction entre les facteurs génétiques de l'hôte humain et le pathogène lui-même sur lequel s'exercent des forces sélectives importantes. Des études ont ainsi montré que des génotypes de *M. tuberculosis* se seraient différenciés préférentiellement dans certaines régions, suggérant que certaines populations humaines dans certaines conditions géographiques seraient plus sensibles à certaines souches. La connaissance du génotype des souches malgaches permettrait, d'une part de voir si celles-ci se sont adaptées à leur hôte, et d'autre part de

rechercher s'il existe une réponse immune souche spécifique.

### Méthodologie

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

Il s'agit de recruter environ 250 patients TB pulmonaires au dispensaire anti-tuberculeux d'Antananarivo (DAT) et leurs familles ainsi que les formes graves de tuberculose pédiatrique, pendant 3 ans à Antananarivo. Pour l'étude en milieu pédiatrique, tous les échantillons biologiques d'enfants suspects de TB provenant de différents services de pédiatrie d'Antananarivo sont analysés à l'IPM.

Les données épidémiologiques sur ces familles sont recueillies. Des échantillons biologiques sont récoltés. L'ADN est extrait à partir du sang des sujets et sera envoyé au Laboratoire de Génétique Humaine des Maladies Infectieuses (Hôpital Necker, Paris) pour les études génétiques.

Les souches *M. tuberculosis* isolées chez les patients sont caractérisées par spoligotyping. De plus, un échantillon de souches de différents spoligotypes a été typé avec les 24 marqueurs MIRU-VNTR afin de déterminer lesquels sont les plus discriminants pour le génotypage des souches *M. tuberculosis* malgaches.

Pour déterminer s'il existe une influence du génotype des souches BK sur l'expression de diverses cytokines chez les sujets TB, depuis septembre 2009 le sang total des sujets inclus est stimulé avec l'antigène PPD, et les cytokines dans le plasma seront ensuite dosées à l'IPP.

### Etat d'avancement des travaux

De juillet 2007 à décembre 2009, 226 patients TPM+ (dont 192 du DAT et 34 des services de pédiatrie) et au total 464 membres de leurs familles (parents ou collatéraux) ont été recrutés. Pour l'étude sur les formes graves de tuberculose pédiatrique, 17 cas de miliaire et 2 cas de méningite ont été inclus.

Concernant la tuberculose pédiatrique, 362 cas d'enfants tuberculeux ont été déclarés au service de pédiatrie de l'hôpital de Befelatanana et à l'Hôpital Mère-Enfant de Tsaralalana. Ceux-ci comprenaient 44 cas TPM+, 106 TPM-, 206 TEP et 4 cas de forme non précisée.

Dix souches du groupe moderne 1 (Beijing, CAS), 10 souches de la famille T et 10 souches de la spoligotypes EAI ont été analysées avec 24 MIRU-VNTR. Six d'entre eux se sont avérés suffisants pour différencier les souches au sein d'une même famille. Ces résultats devront être confirmés avec un plus grand échantillon de souches.

Pour étudier l'influence du génotype des souches sur la réponse immune, les souches *M. tuberculosis* isolées ont été typées par spoligotyping. Une étude préliminaire a été faite avec 30 plasmas de patients infectés par des souches Beijing/CAS, des souches EAI et des souches T, ainsi que 10 plasmas de sujets sains. La sécrétion de certaines cytokines a tendance à être plus élevée chez les patients infectés par les souches Beijing ou CAS par rapport aux autres patients. Cependant, les différences observées ne sont pas statistiquement significatives et ces résultats devront être confirmés avec un plus grand nombre de sujets.

### Perspectives

Le recrutement des patients TB et leurs familles à Antananarivo sera poursuivi jusqu'en juin 2010. Les ADN extraits du sang ainsi que les données seront envoyés à l'équipe de L Abel (INSERM) pour l'analyse génétique.

L'analyse des spoligotypes des souches *M. tuberculosis* sera poursuivie. Les plasmas des sujets seront envoyés à l'IPP pour l'étude des cytokines. L'analyse de ces résultats sera faite en collaboration avec l'IPP et l'Unité d'Epidémiologie de l'IPM.

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

IPM : Unité des Mycobactéries, Unité d'Epidémiologie  
Partenaires du projet ETMATACAP

### Objectifs

La diminution de l'incidence de la TB dans les pays d'Afrique, où cette maladie est un véritable fléau en santé publique, nécessite la découverte de nouveaux antibiotiques utilisables en schémas thérapeutiques courts, mais aussi le développement de nouveaux vaccins efficaces. Plusieurs candidats vaccins ont été développés en Europe, et certains sont testés en phase I en Afrique.

La réalisation d'essais cliniques en Afrique est tributaire de la présence de sites compétents. Ceci englobe aussi bien les capacités techniques des laboratoires et centres cliniques que les compétences des personnels (chercheurs, cliniciens, techniciens). Le projet "Capacity building for the conduct of ICH-GCP level TB vaccine trials in high risk populations in Ethiopia and East Africa" (ETMATACP), coordonné par le "Armauer Hansen Research Institute" (AHRI, Ethiopie), a débuté en septembre 2007 et s'achèvera fin 2010. Il a pour objectif de renforcer les compétences de AHRI et de ses deux partenaires, Madagascar et Tanzanie, pour

de futurs essais vaccinaux.

### Approche méthodologique

Il s'agit de former les différents sites, d'une part à travers la réalisation d'un essai vaccinal de phase I par AHRI en Ethiopie, et d'autre part par la formation des partenaires malgaches et tanzaniens aux bonnes pratiques cliniques et bonnes pratiques de laboratoire pour les essais cliniques.

### Réalisations et perspectives

Une formation de 3 jours sur la technique de cytométrie de flux a été faite au KMRC à Moshi, Tanzanie (pour 2 techniciens tanzaniens et 1 chercheur malgache) par ImmunoVac Consulting.

Un médecin de l'Unité d'Epidémiologie a suivi le Master I d'épidémiologie et santé publique de l'Université de Bordeaux 2 en 2008-2009.

Une formation pratique de 2 semaines sur la cytométrie de flux sera donnée à l'IPM en mars 2010 par ImmunoVac Consulting. Une étude (projet de stage d'un étudiant en DEA) sera ensuite développée dans le cadre de l'application de cette technique.

Un médecin de l'Unité d'Epidémiologie est inscrit au Master II d'Epidémiologie Clinique, Université Victor Segalen de Bordeaux 2 pour l'année 2009-2010.

### 4- Outils de diagnostic de la tuberculose

IPM : HAO Saïd Tohir, H Ramarokoto, V Rasolofo

### Objectifs

Bien que de nombreuses approches diagnostiques, principalement moléculaires et sérologiques, aient été développées, de nouveaux tests simples et plus rapides que la culture, mais fiables, sont toujours recherchés pour le diagnostic précoce de la TB. D'après la littérature, il semble possible de concentrer et ainsi de détecter les microorganismes présents à de faibles concentrations dans de grands volumes de prélèvements par la technique d'immunocapture sur des billes magnétiques.

Nous avons évalué la faisabilité de cette méthode pour la détection de *M. tuberculosis* dans les échantillons biologiques. La révélation de la présence du bacille peut se faire soit par PCR soit par ELISA.

### Méthodologie

Une évaluation de la technique d'immunocapture avec révélation par PCR a été effectuée sur 30 échantillons de TB pulmonaire, 30 échantillons de TB extrapulmonaire et 30 échantillons microscopie et culture négatives, en prenant comme test de référence la culture sur milieu de Löwenstein-Jensen. Elle a été éga-

lement comparée à la méthode de PCR sans immunocapture.

#### **Réalisations en 2009 et perspectives**

La spécificité de la méthode de PCR après immunocapture est de 100%. La sensibilité, respective-

ment de 100% (30/30) et 83,3% (25/30) pour la détection des tuberculoses pulmonaires et extrapulmonaires, est meilleure que celle de la PCR seule.

Une méthode ELISA pour la détection des BK après immunocapture sur billes magnétiques sera mise au point et évaluée.

---

## **ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE**

*(voir page 73)*

---

---

# MALADIES VIRALES

---

---

## RESPONSABLES SCIENTIFIQUES

- **JM Reynes**, vétérinaire Ph D, chef de l'Unité (jusqu'au 30 septembre)
- **JM Héraud**, scientifique Ph D, adjoint au chef d'Unité, responsable du Centre National de Référence OMS pour la Grippe
- **R Razafindratsimandresy**, scientifique Ph D, adjoint au chef d'Unité, responsable du Laboratoire National OMS pour la Poliomyélite et la Rougeole
- **SF Andriamandimby**, médecin, adjoint au chef d'Unité, responsable des Laboratoires Arbovirus, Virus des Fièvres Hémorragiques et de la Rage

## SCIENTIFIQUE ASSOCIE

- **E Jeanmaire**, vétérinaire, étudiante, Certificat d'Etudes Approfondies Vétérinaires

## COLLABORATIONS

### Laboratoire National de Référence OMS pour la Poliomyélite et la Rougeole

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

### Centre National de Référence OMS pour la Grippe

- **Y Seignon**, OMS Antananarivo
- **Ministère de la Santé et du Planning Familial :**
  - . **RR Andrianirina**, Direction des Urgences et de la Lutte contre les Maladies Transmissibles (DULMT)
  - . **L Ravololona**, Service de Lutte contre les Maladies Emergentes et Ré-émergentes (SLMER/DULMT)
  - . **A Randriamanarivo Solofoniaina**, Service de Surveillance Epidémiologique (SSUREPI/DULMT)
- **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

### Laboratoire National de Référence pour la Rage

- **LT Razafimanantsoa**, vétérinaire, chef de service de la lutte contre les maladies animales, direction de la santé animale et du phytosanitaire, Ministère de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche
- **EF II Ramahefalalao**, Point Focal Rage, service de la Lutte contre les Maladies Emergentes et Ré-émergentes, Direction des Urgences et de la Lutte contre les Maladies Transmissibles (DULMT)

### Laboratoire pour les Arbovirus et les virus responsables des Fièvres Hémorragiques

- Direction des Urgences et de la Lutte contre les Maladies Transmissibles (DULMT)
- Service de Surveillance Epidémiologique (SSUREPI)
- Service de Lutte contre les Maladies Emergentes et Ré-émergentes (SLMER)

## SOUTIENS FINANCIERS

- Ministère de la Santé Française
- Banque Mondiale
- Organisation Mondiale de la Santé
- Direction des Affaires Internationales du Réseau International des Instituts Pasteur
- Department of Health and Human Services (DHHS), USA
- Institut Pasteur de Madagascar.

---

*L'Unité de Virologie de l'Institut Pasteur de Madagascar est composée de plusieurs laboratoires partageant la même plateforme : le Laboratoire National de Référence (LNR) OMS pour la poliomyélite et la rougeole, le Centre National de Référence OMS pour la grippe (CNRG), le LNR pour la rage et le LNR pour les arbovirus et virus de fièvres hémorragiques. Ces laboratoires sont impliqués dans des activités de surveillance et de recherche. Le personnel de l'unité participe également à des activités de formation.*

*Le LNR OMS pour la poliomyélite n'a pas détecté dans le cadre de sa surveillance de circulation de virus de la poliomyélite (c'est ainsi depuis 2006). Il a initié cette année plusieurs programmes de recherche, un portant sur la diversité génétique des rotavirus à Madagascar et un autre sur la diversité génétique des entérovirus humain du groupe C.*

*En 2009, le LNR OMS pour la rougeole n'a pas détecté lors de son activité de surveillance de cas d'infection récente par le virus de la rougeole contrairement à 2008.*

*Le CNR OMS pour la grippe a continué à renforcer son réseau de surveillance clinique et biologique de la grippe et de la grippe aviaire, en collaboration avec l'Unité d'Epidémiologie de l'IPM et la Direction des Urgences et de la Lutte contre les Maladies (DULM) de la Vice-Primature chargée de la Santé Publique (VPM-SP). Ce CNR a joué un rôle majeur dans la détection et le suivi du virus pandémique A/H1N1/09 à Madagascar. Au niveau des activités de recherche, le CNR a effectué une étude rétrospective sur la diversité des virus respiratoires circulant au niveau communautaire à Antananarivo.*

*Le LNR pour la rage a eu une activité de surveillance assez faible, celle-ci étant très passive à Madagascar. Cependant, une légère recrudescence des cas humains et canins a été observée notamment dans le district de Moramanga en fin d'année 2009. Une alerte a été adressée à la VPM-SP. Les activités de recherche se sont poursuivies avec la recherche de lyssavirus (et plus largement de virus) chez les chauves-souris, hôtes naturels des lyssavirus.*

*Le CNR pour les arbovirus et virus responsables de fièvres hémorragiques est le dernier nommé dans notre unité par la VPM-SP. Il l'a été à l'occasion de la réémergence de la Fièvre de la Vallée du Rift, détectée par notre laboratoire dans le cadre de la surveillance sentinelle et lors d'une investigation d'un cluster de cas de fièvres hémorragiques. Cette année a été relativement calme en termes de diagnostic virologique d'arbovirus, mis à part la détection d'une circulation sporadique du virus Chikungunya à Toamasina, aucune épidémie due à des arbovirus n'a été observée. Cependant, le LNR a participé à la surveillance sentinelles des maladies à potentiels épidémiques et a mis en place des techniques moléculaires en temps réel permettant le diagnostic plus rapide des arboviroses et des virus de fièvres hémorragiques d'importance majeure. Des programmes de recherche initiés à la fin de l'année 2008 ont continué tout au long de l'année 2009. Entre autre, les programmes importants visant à mieux connaître l'épidémiologie du virus responsable de la FVR (recherche de mammifères réservoirs potentiels, distribution géographique de la maladie, épidémiologie moléculaire, aspects vectoriels) ont donné des premiers résultats.*

*Enfin, cette année est marquée par la mise en fonction d'un laboratoire de niveau de sécurité 3 d'une surface de 100 m<sup>2</sup> partagé avec l'Unité des Mycobactéries. C'est pour l'heure le seul laboratoire de type NSB3 en fonction dans la Région. Il existe bien un laboratoire NSB3 sur l'île de la Réunion (Centre de Recherche et de Veille sur les maladies émergentes dans l'Océan Indien ou CRVOI), mais celui-ci ne fonctionne pas à plein régime et surtout ne dispose pas d'une section animale. Notre laboratoire NSB3 permettra la fabrication dans de meilleures conditions de sécurité des réactifs nécessaire au diagnostic des arboviroses, de disposer d'une plateforme permettant le diagnostic de la grippe aviaire et d'initier des programmes de recherche nécessitant ce niveau de confinement.*

## DECOMPOSITION DU PROGRAMME

### ACTIVITES DE RECHERCHE

- 1- Paramyxovirus et chauves-souris à Madagascar
- 2- Lyssavirus et chauves-souris
- 3- Herpesvirus et chauves-souris
- 4- Entérovirus chez les primates non humains au Cameroun et à Madagascar
- 5- Géotypes P et G de rotavirus associés aux gastro-entérites infantiles
- 6- Co-circulation, interactions et évolution des entérovirus C et des poliovirus
- 7- Virus respiratoires à Madagascar

### ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE *(voir page 65)*

- 1- Laboratoire National de Référence OMS pour la poliomyélite
  - 2- Laboratoire National de Référence OMS pour la rougeole
  - 3- Centre National de Référence OMS pour la grippe
  - 4- Laboratoire National de Référence pour la rage
  - 5- Laboratoire pour les Arbovirus et les virus responsables des Fièvres Hémorragiques
-

## ACTIVITES DE RECHERCHE

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

IPM : *R Razafindratsimandresy, S Rabemanantsoa, NS Andriamamonjy*

Les infections par les rotavirus constituent une des causes majeures de gastroentérites (GE) sévères chez les enfants en bas âge. En combinaison avec la malnutrition, ces infections provoquent des maladies sévères chez plusieurs millions d'enfants dans le monde et sont responsables de près de 600 000 décès par an, notamment dans les pays en voie de développement. Devant ce constat, l'OMS encourage ses états-membres, notamment en Afrique, à mettre en place des protocoles d'études axés sur la surveillance et la mesure du fardeau des GE à rotavirus afin d'évaluer entre autres les besoins qualitatifs et quantitatifs en vaccins anti-rotavirus. En particulier, il s'agit de connaître les génotypes de rotavirus circulant dans les pays africains.

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

Dans cette étude, la collection de prélèvements devait comprendre 2 800 selles venant de 14 districts de Madagascar (à raison de 200 selles par district) : Ambohidratrimo-Ivato, Tsiroanomandidy, Antsiranana I, Sava (Andapa), Fianarantsoa I, Ihosy, Maevatanana, Mahajanga I, Moramanga, Ambatondrazaka, Toamasina I, Taolagnaro, Toliara I et Morondava. A la fin de la collecte, il y avait au total 2 803 selles dont 2 134 font l'objet de la recherche de l'infection par un rotavirus (tableau I). Cette diminution du nombre de selles testé est due à la quantité insuffisante de certains matériels collectés. Nous avons utilisé la technique ELISA (IDEIA™ Rotavirus, Oxoid remplacé par le Prospect™ Rotavirus, Oxoid) pour la recherche de l'antigène rotavirus dans les selles. Les selles trouvées infectées ont été utilisées pour la détermination du génotype viral. Le génotypage a été effectué par technique moléculaire portant sur les 2 gènes VP7 (génotype G) et VP4 (génotype P). Il s'agit d'une RT-PCR utilisant des amor-

ces consensus suivi d'une PCR-nichée utilisant des amorces spécifiques des génotypes et donnant des produits d'amplification de tailles différentes suivant le génotype. C'est la combinaison des génotypes trouvés pour ces 2 gènes VP7 et VP4 qui donne le génotype d'une souche. Sur ces 2 134 selles testées en ELISA, 129 sont positives pour l'infection par un Rotavirus. Après extraction de l'ARN viral, les amplifications des gènes VP7 et VP4 ont permis d'obtenir le résultat suivant : 19 selles sont négatives ; 58 G9P[8] ; 20 G1P[8] ; 8 G1P[6] ; 7 P[8] ; 3 G1P[6]P[8] ; 3 combinaison de P6 et P8 ; 2P[6] ; 2P[9] ; 1 G4P[6] ; 1 G4P[6]P[8] ; 1G9 ; 1 G9P[6]P[8] ; 1 P[8] ; 1 G10P[6] ; et 1 G9 G1 P[8].

Vu l'insuffisance du nombre des selles (6/206 : 3%) venant de Toliara testées en ELISA, nous avons essayé de tester 30 prélèvements par la technique moléculaire. Sur ces 30 prélèvements, nous avons eu 7 selles qui sont négatives ; 7 G1P[8] ; 7 P[8] ; 4 G1 ; 3 P[6] ; 1 G1P[6] et 1 G9G1P[8].

Tableau I : Répartition des selles par site et le résultat du test ELISA

Sites	Nb collectés	Nb testés en ELISA	Nb négatifs en ELISA	Nb positifs en ELISA
Ambatondrazaka	201	134	109	25
Antsiranana I	204	204	198	6
Fianarantsoa I	203	122	117	5
Ihosy	182	137	131	6
Ivato	184	161	117	44
Maevantanana	203	203	197	6
Mahajanga I	208	203	127	3
Moramanga	210	198	198	0
Morondava	200	103	97	6
SAVA (Andapa)	188	185	167	18
Toamasina I	206	206	206	0
Toalagnaro	213	78	73	5
Toliary I	206	6	4	2
Tsiroanomandidy	195	195	192	3
<b>TOTAL</b>	<b>2803</b>	<b>2134</b> <b>(76%)</b>	<b>2005</b> <b>(94%)</b>	<b>129</b> <b>(6%)</b>

Le séquençage de quelques amplicons des représentants de chaque site et de chaque génotype trouvés dans ces sites est en cours.

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

IPM : *R Razafindratsimandresy, S Rabemanantsoa, NS Andriamamonjy*

Depuis l'année 2000, il y a eu 10 cas de poliomyélite liés aux poliovirus dérivés des souches vaccinales (VDPV) dans différentes régions du monde, y compris

Madagascar en 2002 et 2005 (districts de Taolagnaro et de Toliara I et II). Dans la plupart des cas, ces VDPVs étaient des recombinants entre le virus du vaccin par voie orale (OPV) et d'autres entérovirus qui sont le plus souvent des entérovirus humains appartenant au groupe C (HEV-C).

Un programme Transversal de Recherche a été initié en 2008 entre les Instituts Pasteur de Côte d'Ivoire, de Dakar, de Madagascar, l'Institut Cantacuzène en Roumanie et Institut Pasteur à Paris. Il vise à **1/** décrire la diversité des entérovirus du groupe C circulant dans ces pays, **2/** étudier le turn-over et l'évolution de cette population virale à Madagascar (qui a déjà été un centre d'émergence de VDPV recombinants), **3/** étudier chez des cellules infectées ou chez la souris les interactions (coopération ou non) entre ces entérovirus du groupe C et les poliovirus, la viabilité et le comportement phénotypique de recombinants artificiels.

L'Institut Pasteur de Madagascar est impliqué surtout dans l'objectif 2. Trois collections de selles sont disponibles :

- collection constituée en 2002 à Taolagnaro (suite à l'émergence de VDPV) : 316 selles ;
- collection constituée en 2004 à Taolagnaro (suivi de l'épidémie de 2002) : 335 selles ;
- collection constituée en 2005 à Toliara et à Tsihombe (suite à la ré-émergence de VDPV) : 228 selles.

Ces selles ont été traitées au phénol-chloroforme (pour éliminer les bactéries et le champignon) puis des tentatives d'isolement des virus ont été faites en inoculant les extraits de selles sur des cultures cellulaires RD (lignée continue de rhabdomyosarcome humain) et HEp-2 (lignée continue de carcinome humain de larynx). Par contre, pour discriminer les poliovirus des autres entérovirus, les isolats obtenus sur RD ou HEp-2 ont été ré-inoculés sur cellules L20B (cellules murines exprimant le récepteur spécifique du poliovirus CD155). Les tentatives d'isolement des virus sur cultures cellulaires ont été positives (présence d'effet cytopathogène) pour 71 prélèvements de la collection de 2002, pour 65 prélèvements de la collection de 2004 et pour 46 prélèvements de la collection de 2005 (tableau I).

Ces isolats ont fait l'objet de l'étude moléculaire. L'ARN viral a été extrait avec le kit "QIAamp RNA Viral extraction" Qiagen. A partir de cet extrait d'ARN, nous avons amplifié par RT-PCR 4 régions du génome : 5'NC, VP1-2C, VP3-2A et 3Dpol-5'. Les produits d'amplification de ces 4 régions ont été ensuite séquencés. L'étude phylogénétique a été faite avec une portion de la séquence de la région capsidale VP1 (313 pb : 3065 – 3375 nt d'après le virus "Mahoney", poliovirus sauvage de

type 1, avec le numéro d'accès GenBank : V01149). Le résultat de cette étude phylogénétique est résumé dans le tableau II.

Tableau I : **Etat d'avancement de l'étude**

Années	Isolats	Commentaires	Produits amplifiés		
			5'NC	3Dpol	VP1
<b>2002</b> <b>316 selles</b>	N = 71	Soumis dans la base de séquences	59	60	65
		Pas soumis : séquencés Adénovirus	11	10	5
			1		
<b>2004</b> <b>335 selles</b>	N = 65	Soumis dans la base de données	0	0	0
		Pas soumis : séquencés Adénovirus	63	63	63*
			2		
<b>2005</b> <b>228 selles</b>	N = 46	Soumis dans la base de données	0	0	21
		Pas soumis : séquencés Adénovirus	43	43	22
			3		

\* 2 isolats n'ont pas la taille de séquence suffisante pour être pris en compte dans l'étude phylogénétique

Tableau II : **Récapitulatif des génotypes trouvés après l'étude phylogénétique avec une portion de la séquence du gène VP1**

		Génotypes*	2002	2004	2005	Nbre isolats
<b>HEV-A (N=3)</b>	CV A10	0	0	1	1	
	EV71	0	1	1	2	
<b>HEV-B (N=34)</b>	E1	0	8	0	8	
	E6	0	9	0	9	
	E12	0	1	1	2	
	E16	0	0	1	1	
	E19	0	1		1	
	E30	0	1	1	2	
	E33	0	0	7	7	
	EV69	0	0	1	1	
<b>HEV-C (N=51)</b>	CVB4	0	2	0	2	
	CVB6	0	0	1	1	
	PV1	0	1	0	1	
	CV A11	0	3	0	3	
	CV A13	0	23	1	24	
	CV A17	0	1	0	1	
	CV A20	0	6	0	6	
	CV A24	5	2	6	13	
EV99	0	2	1	3		
<b>TOTAL</b>		<b>5</b>	<b>61</b>	<b>22</b>	<b>88</b>	

\* CV : Coxsackievirus ; E : Echovirus ; EV : entérovirus

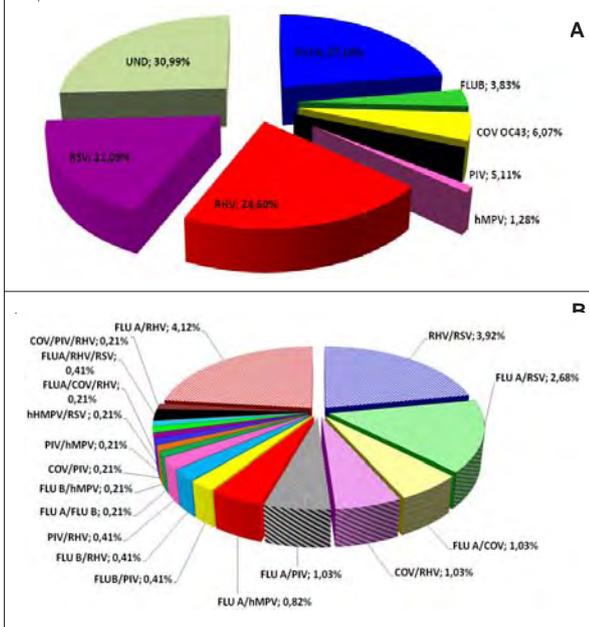
#### VIRUS RESPIRATOIRES À MADAGASCAR

IPM : JM Héraud, NH Razanajatovo, J Hoffmann, GM Razafitrimo

Il existe très peu de données sur Madagascar concernant les virus respiratoires circulant à Madagascar et responsables d'Infection Respiratoires Aigües (IRA). La dernière étude remonte à 1985 et porte sur l'analyse par immunofluorescence indirecte de 80 sécrétions naso-pharyngées collectées chez des enfants âgés de 6 jours à 10 ans ayant consulté le service de pédiatrie pour des IRA (Ravaorinoro M, et al. Arch Inst Pasteur

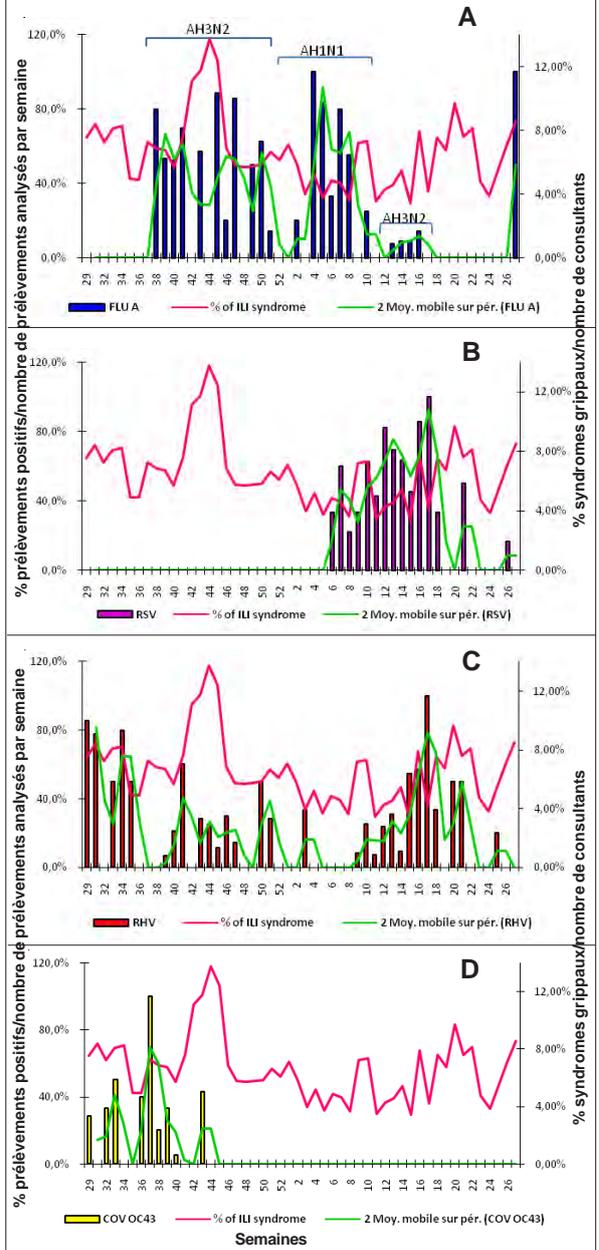
Madagascar, 1985). Les auteurs ont pu ainsi identifier les virus respiratoires suivants : PIV-3 (25%), RSV (18%), ADV (18%), Flu A (13%), Flu B (9%), et PIV-1 (5%). Depuis Février 2008, le CNRG a pu mettre en place et valider les techniques de diagnostic moléculaire en temps réel (real-time PCR) pour les virus suivants : Virus grippaux A et B (FluA et B), Virus Respiratoires Syncytiaux (RSV), Virus Parainfluenza (PIV) 1, 2, 3, Metapneumovirus humains (hMPV), Coronavirus humain (hCoV), rhinovirus (RhV). En 2009, le CNRG a réalisé une étude rétrospective sur les étiologies d'origines virales des IRA. Cette étude porte sur un total de 313 prélèvements effectués dans le cadre de la surveillance sentinelle de la grippe à Antananarivo. Les résultats indiquent que 69% des consultants pour des IRA étaient infectés par au moins l'un des virus recherchés (9 virus testés).

Figure 1 : Pourcentage des virus respiratoires détectés par RT-PCR en temps réel dans les consultations pour IRA au niveau de sites sentinelles grippe à Antananarivo entre juin 2008 et juillet 2009 (A) et pourcentage des coinfections (B)



L'étude montre que les virus majoritairement détectés et responsables des IRA sont les virus grippaux A et B qui représentent à tous les deux 31% des consultations suivi des rhinovirus et des virus respiratoires syncytiaux avec respectivement 24 et 21% des consultations (figure 1A). On note une part non négligée d'infection par le Coronavirus hCoV-OC43 (6%). C'est la première fois que la circulation de ce virus est mise en évidence à Madagascar. L'intérêt de la technique RT-PCR multiplexe est de pouvoir mettre en évidence les coinfections chez un même patient. Ainsi nous avons pu observer environ 19% de coinfection et une part très faible de triple infection (0,8%) (figure 1B).

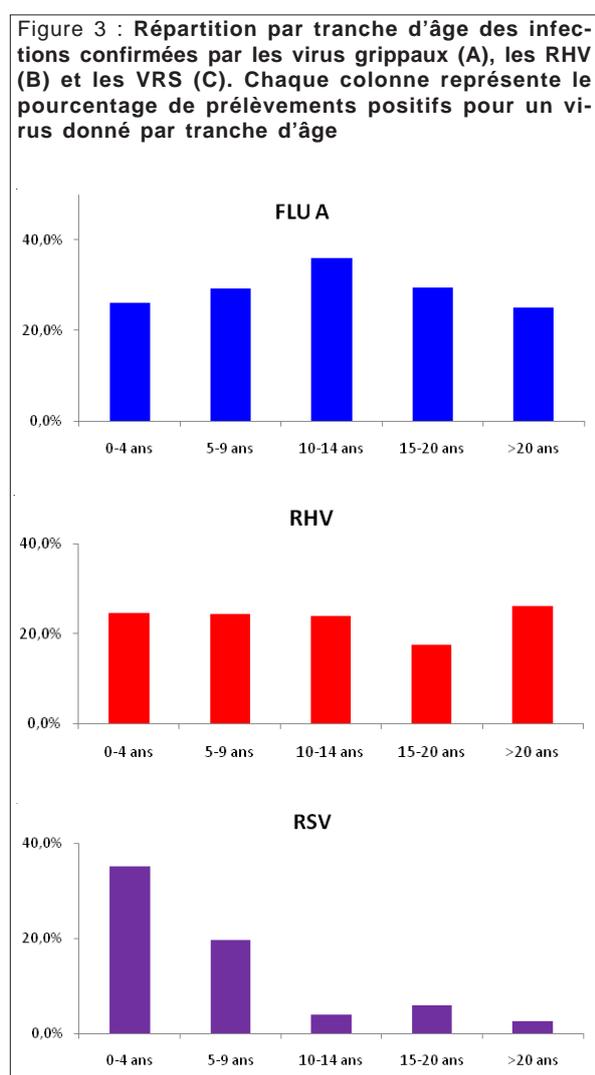
Figure 2 : Dynamique de circulation des virus de la grippe (A), du VRS (B), du RhV(C) et du CoV-OC43 (D) entre juin 2008 et juillet 2009 à Antananarivo. Chaque colonne représente le pourcentage de prélèvements positifs par semaine associé aux moyennes mobiles sur 2 semaines (courbes verte). Les courbes roses représentent le pourcentage de syndromes grippaux sur le nombre de consultants (données OSTIE Behoririka)



Nous avons aussi observé les périodes de circulations des 4 principaux virus responsables des IRA à savoir les virus grippaux, RhV, VRS et hCoV-OC43. Comme pour les années précédentes, le virus grippal circule durant deux périodes distinctes (figure 2A). Une première période entre janvier et mars identique à la période de circulation du virus grippal dans l'hémisphère nord et une seconde période du mois de septembre au mois de décembre correspondant à la fin de l'hiver austral et au début de la saison humides. Pour le VRS nous avons détecté sa circulation du mois de février au mois

d'avril avec quelques cas sporadiques en mai et juin (figure 2B). Des Rhinovirus semblent circuler toute l'année avec deux pics aux mois d'avril et juillet (figure 2C). Enfin, la circulation du Coronavirus OC-43 a été mise en évidence du mois de juillet au moi d'octobre avec un pic d'isolement en septembre (figure 2D).

L'analyse par tranche d'âges des infections pas les trois virus parmi les plus importants (le nombre de cas d'infections par le Coronavirus n'était pas suffisant pour l'intégrer dans cette analyse). Montre que les virus grippaux et les Rhinovirus touchent toutes les classes d'âges de manière assez homogènes, le VRS quant à lui affecte préférentiellement les enfants de moins de 10 ans (figure 3).



En conclusion, cette étude est la première étude réalisée à Madagascar s'attachant à déterminer l'étiologie des IRA autres que la grippe. L'originalité repose sur un suivi d'un an et sur une technique permettant de diagnostiquer à partir d'un même prélèvement plusieurs virus respiratoires. Cette étude va se poursuivre cette année à deux niveaux. Un premier niveau sur l'étiologie

des cas hospitalisés avec syndrome respiratoire grave et pour cela nous allons étendre notre diagnostic à d'autres virus et certaines bactéries. Sur un aspect plus virologique, nous allons étudier la phylogénie de ces différents virus respiratoires isolés à Madagascar.

## EMERGENCE ET RÉÉMERGENCE DU VIRUS DE LA FIÈVRE DE LA VALLÉE DU RIFT

### Volet 1 : Identification de réservoirs sauvages potentiels du virus de la fièvre de la vallée du Rift à Madagascar

IMP : JM Reynes, MM Olive, JT Rafisandratantsoa, N Razafindralambo, R Rakoto Rakotomalala  
Appel à projet de recherche 2008 Centre de Recherche et de Veille sur les maladies Emergentes dans l'Océan Indien (CRVOI)

Le virus de la Fièvre de la Vallée du Rift (VFVR) a été isolé pour la première fois à Madagascar en 1979 à partir de pools de moustiques capturés dans la forêt du Perinet sans que d'épizootie/épidémie n'aient été déclarées. C'est en 1990 que la première épizootie/épidémie de Fièvre de la Vallée du Rift (FVR) a été reportée à Madagascar dans le district de Fenerive Est (côte Est de Madagascar). En 1991, un deuxième épisode est apparu sur les Hauts Plateaux. Une des hypothèses du maintien du virus en période inter-épizootique ou inter-épidémique est la circulation du virus au sein de la faune sauvage. Les petits mammifères sauvages ont souvent été suspectés d'être le réservoir du VFVR (*Daubney et Hudson, 1932; Weinbren et Mason, 1957*). De nombreuses investigations sérologiques ont montré la présence d'anticorps dirigés contre le VFVR chez les rongeurs (*Swanepoel, 1978; Hoogstraal, 1979; Kark, 1982; Gonzalez, 1983; Saluzzo, 1987; Pretorius, 1997; Gora, 2000; Youssef, 2001*). Lors d'autres études le VFVR a été détecté à partir de prélèvements effectués chez l'espèce *Rattus rattus* (*Imam, 1979; Youssef, 2002*). Parmi les petits mammifères, les rongeurs et plus particulièrement ceux de l'espèce *R. rattus* sont suspectés être réservoirs du virus. Cette espèce est présente dans tous les milieux : forestier, agricole, rural et urbain. Madagascar ne fait pas exception et l'espèce *R. rattus* circule dans tous les types d'environnements. Au sein du projet RIFT-OI, l'objectif d'identification de réservoirs sauvages potentiels du VFVR à Madagascar cible donc les petits mammifères terrestres ("work package" 1 du projet). L'étude est menée dans la forêt d'Anorana dans le district d'Anjozorobe (province d'Antananarivo). Cette zone a été choisie car elle est proche de la forêt du Perinet où le virus a été détecté pour la première fois, un inventaire des espèces de petits mammifères présentes était

déjà disponible et enfin, car il s'agissait d'une aire non protégée et qu'une autorisation de prélèvements sur petits mammifères endémiques était possible dans cette forêt. Ce site a été choisi fin 2007 alors que la circulation du VFVR responsable de l'épizootie/épidémie en 2008 n'avait pas encore été détectée. Des captures de petits mammifères ont été réalisées en collaboration avec l'Association Vahatra. Le sang, les principaux organes (foie, rate, reins, cœur, poumons et cerveaux) ont été prélevés ainsi que des ectoparasites. A partir des sérums, nous avons fait une recherche qualitative d'IgG dirigées contre le VFVR selon des techniques décrites par Madani *et al.*, 2003, et suivant les Procédures Opératoires de la Special Pathogens Branch du CDC à Atlanta. Les prélèvements avec résultats positifs par cette méthode qualitative, ont ensuite été testés en méthode quantitative utilisant 4 dilutions pour chacun des sérums (1/100, 1/400, 1/1600, 1/6400). Des sérums prélevés en 2008 par l'Unité Peste de l'IPM sur des individus de l'espèce *R. rattus* dans des régions ayant connu des épisodes de FVR en 2008 ont aussi été testés pour la recherche d'IgG anti-VFVR. Pour les investigations virologiques, des pools monospécifiques de broyat de foie (prélèvements d'octobre 2008) et de broyat de foie + rate (prélèvements de mars 2009) de 1 à 5 individus ont été constitués. Au total 134 pools ont pu être obtenus et testés. La détection moléculaire du VFVR a été réalisée par RT-PCR au temps réel ciblant une partie du segment S codant pour la nucléoprotéine selon la méthode décrite par Weidmann *et al.*, 2008. Afin de valoriser la banque de prélèvements et de détecter d'autres virus que le VFVR, les pools de surnageants de broyats d'organes ont été inoculés sur des souris nouveaux-nés d'après la méthode établie par Sureau, 1978.

Le tableau I, présente l'état de la collection des prélèvements de sérums et d'organes effectués lors des deux premières saisons de capture programmées en octobre 2008 (saison sèche) et mars 2009 (saison humide). Le tableau II présente les caractéristiques de la sérothèque de *R. rattus* obtenue auprès de l'Unité Peste de l'IPM.

Les résultats de la recherche par ELISA d'IgG dirigées contre le VFVR dans les sérums de 586 petits mammifères terrestres, prélevés en octobre 2008 et mars 2009 dans la forêt d'Anorana, se sont révélés négatifs. Les résultats de la recherche de VFVR par RT-PCR temps réel sur les foies et rates de ces animaux ont été également négatifs. Les résultats ont été également négatifs pour des investigations sérologiques menées sur 238 rongeurs de l'espèce *R. rattus* prélevés par l'Unité Peste de l'IPM. Ces animaux avaient été prélevés dans des

districts touchés par le VFVR, pendant ou juste après sa circulation.

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

Espèce	Ef	Sm	Fe	Re	Rn	Cr	Pn	Cu
<b>Rongeurs (Rodentia)</b>								
<i>Eliurus majori</i>	9	9	9	9	9	9	9	0
<i>Eliurus minor</i>	11	11	11	11	11	11	11	0
<i>Eliurus tanala</i>	6	6	6	6	6	6	6	0
<i>Eliurus sp.</i>	1	1	1	1	1	1	1	0
<i>Gymnuromis roberti</i>	3	3	3	3	3	3	3	0
<i>Nesomys rufus</i>	29	29	29	29	29	29	29	0
<i>Rattus rattus</i>	304	303	303	303	303	303	303	300
<b>Insectivores (Afrosoricida)</b>								
<i>Hemicentetes semispinosus</i>	18	18	18	18	18	18	18	0
<i>Microgale dobsoni</i>	133	130	130	130	130	130	130	0
<i>Microgale fotsifotsy</i>	3	3	3	3	3	3	3	0
<i>Microgale gymmorhynca</i>	2	2	2	2	2	2	2	0
<i>Microgale longicaudata</i>	3	2	2	2	2	2	2	0
<i>Microgale parvula</i>	1	1	1	0	1	1	1	0
<i>Microgale soricoïdes</i>	36	36	36	36	36	36	36	0
<i>Microgale thomasi</i>	13	13	13	13	13	13	13	0
<i>Oryzorictes hova</i>	18	18	18	18	18	17	17	0
<i>Tenrec eucaudatus</i>	1	1	1	1	1	1	1	0
<b>Primates (Primata)</b>								
<i>Microcebus sp</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<b>Totaux</b>	<b>592</b>	<b>586</b>	<b>586</b>	<b>585</b>	<b>586</b>	<b>585</b>	<b>585</b>	<b>300</b>

Ef : effectif      Sm : sérum      Fe : Foie      Re : Rate  
Rn : Rein      Cr : Coeur      Pn : Poumon      Cu : Cerveau

Tableau II : Caractéristiques de la sérothèque de l'Unité Peste testée en IgG anti-VFVR

District	Période capture en 2008	Epizootie/Epidémie FVR en 2008	Prélèvements testés
Ankazobe	Novembre	2 <sup>ème</sup> épisode de FVR	43
Antsiranana	Septembre	Hors épisode	32
Ihoso	Juillet	Hors épisode	26
Marovoay	Novembre	2 <sup>ème</sup> épisode de FVR	2
Moramanga	Avril	1 <sup>er</sup> épisode de FVR	135
<b>Total</b>			<b>238</b>

Ces résultats négatifs peuvent s'expliquer également par des effectifs d'échantillons encore faibles. Ces effectifs devraient être augmentés. Il reste encore deux saisons de prélèvements à effectuer dans le cadre du projet RIFT-OI. Il y a également plusieurs centaines de sérums d'individus de l'espèce *R. rattus* collectés pendant la période épizootique (région de Betafo, mars-juin 2008) qui seront testés.

Les sérologies effectuées dans le cadre du projet concernaient des prélèvements de petits mammifères vivant en milieux forestier. Des investigations complémentaires dans des environnements péri-domestiques de la zone étude (village et zone agricoles d'Anorana) pourraient apporter des informations supplémentaires et renforcer les conclusions à tirer. Les résultats sérologiques négatifs dans ces différents échantillons tendraient à réfuter l'hypothèse des petits mammifères, en particulier *R. rattus*, comme réservoirs potentiels du VFVR à

Madagascar. En revanche, les tentatives d'isolement sur SNN pourraient nous amener à isoler d'autres virus et contribuer à un travail d'inventaire. Ce travail est toujours en cours.

Un volet entomologique est associé à ce projet VFVR et est présenté dans le rapport annuel de l'Unité d'Entomologie.

## Volet 2 : Circulation du virus de la Fièvre de la Vallée du Rift et évaluation du risque de ré-émergence de la maladie à Madagascar

IMP : JT Rafisandratantsoa, SF Andriamandimby

Ce volet de l'étude est mené par l'équipe du CIRAD partenaire du projet. L'Unité de Virologie de l'Institut Pasteur de Madagascar y participe en effectuant les analyses sérologiques (détection d'IgG et d'IgM dirigées contre le VFVR par ELISA) prévues dans le cadre de suivi de troupeau à proximité de la zone d'étude du réservoir potentiel sauvage.

Les sérums de 907 bovins ont été reçus dans l'unité du 28 mai 2009 au 17 juillet 2009. Les résultats transmis le 18 août 2009 à l'équipe partenaire font état de 7 infections récentes par VFVR (présence d'IgM et d'IgG dirigées contre VFVR) et de 248 infections anciennes (présence seulement d'IgG dirigées contre VFVR). Il est probable que ces 7 infections "récentes" s'expliquent par un portage plus long des IgM dirigées contre VFVR chez ces 7 individus et que leur infection date vraisemblablement du premier semestre 2008.

## Volet 3 : Distribution géographique de Fièvre de la Vallée du Rift à Madagascar en 2008

IMP : SF Andriamandimby, JT Rafisandratantsoa, JP Ravalohery, JM Reynes

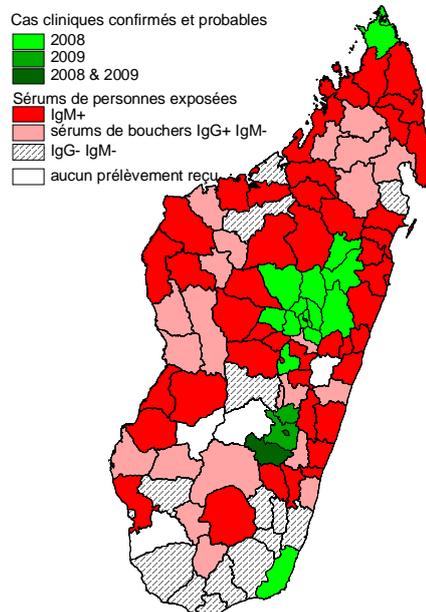
Accord OMS-IPM AF/MAD/EEB/010/XD/08 pour le projet intitulé "Epidémiologie de la Fièvre de la Vallée du Rift"

Pour établir une carte récente de la distribution de la Fièvre de la Vallée du Rift à Madagascar, notre travail a consisté à rechercher des traces d'infection par RVFV (détection d'anticorps IgG et IgM dirigés contre RVFV par ELISA) chez les personnes impliquées dans l'abattage et la préparation de la viande de ruminants domestiques dans un abattoir des 111 chefs-lieux de districts de Madagascar.

La recherche d'IgM et d'IgG dirigées contre RVFV a été effectuée par ELISA à l'IPM sur 1 995 sérums, 31 sérums ayant été exclus car les 31 sujets prélevés ne présentaient pas tous les critères d'inclusion. Deux cent quatorze sujets (10,7%) étaient porteurs au moins d'IgM, signe d'une infection récente par RVFV et 219 (11%) étaient porteurs seulement d'IgG, signe d'une in-

fection ancienne par RVFV. Au total, une infection par RVFV était détectée chez 433 (21,7%) des personnes exposées. L'étude ne visait pas à établir une prévalence mais à établir une carte de circulation de RVFV. Une circulation récente a été établie dans 66 districts et une circulation plus ancienne dans 24 autres. Finalement, la circulation du virus a été objectivée dans 90 districts sur les 111 que compte Madagascar. En tenant compte des cas humains ou animaux d'infection par RVFV confirmés (présence du virus) ou probables (présence d'IgM) détectés pendant l'épidémie (2008-2009), nous observons deux autres districts touchés par RVFV : Antananarivo 101 (non concerné par l'étude sérologique car pas d'abattoir) et Antisranana II 202 (pas de cas positifs lors de l'étude sérologique). Au total, la circulation du virus a donc été objectivée dans 92 des 111 districts de Madagascar (figure 2). La partie Sud de Madagascar comprend la majorité des districts dans lesquels nous n'avons pas pu montrer la circulation de RVFV. Nos résultats négatifs s'expliquent en grande partie pour ces districts par une taille faible de l'échantillon étudié (il aurait fallu que la prévalence d'infection soit élevée pour que nous détections des cas infectés). L'étude de séroprévalence conduite en parallèle chez les ruminants va compléter cette étude et il est vraisemblable que peu de districts de Madagascar aient été épargnés. Il reste à comprendre maintenant les mécanismes et les dynamiques spatiales et temporelles de transmission de la FVR à Madagascar pour mieux la prévenir et la contrôler.

Figure 1: Distribution de la FVR révélée par les résultats de l'enquête sérologique et les résultats des diagnostics biologiques d'urgence effectués pendant les épidémies de 2008 et 2009



## Volet 4 : Surveillance animale de la Fièvre de la Vallée du Rift

IMP : J Razainirina, JT Rafisandratantsoa, E Nohal, JM Heraud

Protocole d'accord LOA/MAG/002/2009 sur le projet intitulé "Emergency livestock and human health response to control the outbreak of Rift valley Fever at Madagascar OSRO/RAF/809/USA"

L'Unité de Virologie de l'IPM est partenaire d'un programme de surveillance animale de la FVR à Madagascar. Ce programme est dirigé par la Direction de Service Vétérinaire (DSV) en partenariat avec la "Food and Agriculture Organization" (FAO). L'Unité de Virologie est impliquée dans le diagnostic de laboratoire par technique moléculaire. Sur les 28 prélèvements reçus (tableau III) il y avait 22 sérums et 6 foies. Un (1) prélèvement n'a pu être traité car souillé à la réception au laboratoire. Pour l'heure, sur les 27 prélèvements analysés, aucun VFVR n'a été détecté aussi bien sur les prélèvements d'organes que sur les prélèvements sanguins (sérums). Il est à noter que les résultats présentés ne concernent que les tests moléculaires effectués au laboratoire. Pour les 13 sites sentinelles inclus dans l'étude, 8 ont envoyés des prélèvements suspects.

Un volet entomologique sur ce projet est présenté dans le rapport de l'Unité d'Entomologie.

Tableau I : Récapitulatif des prélèvements animaux reçus et analysés en 2009 (semaine 39 à semaine 53)

Période (semaines)	Districts	Natures (Nombre)	Résultats
21-27 sep. (39)	Antsiranana II	Sérum (2)	Négatif
28 sep-4 oct. (40)	Ankazobe	Foie (2)	Négatif
	Fianarantsoa I	Foie (1)	Négatif
	Fianarantsoa I	Sérum (1)	Négatif
	Antsiranana II	Sérum (1)	Négatif
5-11 oct. (41)	NEANT		
12-18 oct. (42)	Tolagnaro	Sérum (2)	Négatif
19-25 oct. (43)	Antsiranana II	Sérum	Négatif
26-1er nov. (44)	NEANT		
2-8 nov. (45)	Antsiranana II	Sérum (3)	Négatif
	Ihoso	Sérum	Négatif
9-15 nov. (46)	NEANT		
16-22 nov. (47)	Tsiroanomandidy	Foie	Négatif
23-29 nov. (48)	Ihoso	Sérum	Négatif
30 nov.-6 déc. (49)	Antsiranana II	Sérum (5)	Négatif
7-13 déc. (50)	Antsiranana II	Sérum (1)	Négatif
	CUA	Foie (1)	Négatif
14-20 déc. (51)	NEANT		
21-27 déc. (52)	Antsiranana II	Sérum (1)	Négatif
28- jan. (53)	Anjozorobe	Sérum (1)	Négatif

### VIRUS ET CHAUVES SOURIS

IMP : JM Reynes, MM Olive, R Rakoto Rakotomalala, JP Ravalohery, JT Rafisandratantsoa

## Volet 1 : Paramyxovirus et chauves-souris à Madagascar

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. Ces quatre nouveaux virus ont été décrits en Asie du Sud, du Sud-Est ou en Australie et ont pour particularité de partager un même réservoir, des chauves-souris frugivores du genre *Pteropus* (famille des *Pteropodidae*). Trois espèces endémiques de cette famille sont présentes à Madagascar : *Pteropus rufus*, *Rousettus madagascariensis* et *Eidolon dupreanum*. Nous avons montré la présence d'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*<sup>1</sup>.

La dernière autorisation de recherche nous a permis de faire des prélèvements en janvier et avril/mai 2009 dans le but d'isoler le virus responsable de la séropositivité des animaux et de continuer à constituer une bibliothèque de sérums séquentiels chez ces mêmes animaux afin d'étudier les périodes de circulation virale.

Quatre vingt quatorze prélèvements pharyngés (34 effectués en janvier 2009 et 60 en avril/mai 2009) et 81 prélèvements urinaires (32 effectués en janvier 2009 et 49 avril/mai 2009) ont été collectés. 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. Un effet cytopathogène (ECP) a été observé sur les cellules inoculées par un prélèvement pharyngé collecté en janvier à Angavokely. Cet ECP était du même type que celui induit par l'herpesvirus que nous avons récemment caractérisé<sup>2</sup>. Le virus responsable de cet ECP a été détecté par PCR comme étant bien un herpesvirus. Les autres prélèvements collectés en janvier (34 prélèvements pharyngés, 31 prélèvements urinaires et 2 prélèvements oculaires) ont produit des résultats négatifs. Trente deux prélèvements pharyngés, 27 prélèvements urinaires et 2 oculaires de chauves souris capturés à Angavokely en avril 2009, ont été inoculés sur cellules VeroE6. Aucun ECP n'a été observé.

Par contre, de nombreux ECP du même type que celui induit par l'herpesvirus ont été observés sur les cellules VeroE6 inoculés par des prélèvements pharyngés et urinaires de chauves-souris prélevées en mai 2009 à Angavobe. A ce stade, 28 prélèvements pharyngés et 22 prélèvements urinaires ont été inoculés sur cellules VeroE6. Un ECP a été observé pour 22 prélèvements pharyngés et pour 17 prélèvements urinaires. Neuf pré-

1. Iehlé C, Razafitrimo G, Razainirina J, Andriaholinirina N, Goodman SM, Faure C, Georges-Courbot MC, Rousset D, Reynes JM. Henipavirus and Tioman virus antibodies in Pteropodid bats, Madagascar. *Emerg Infect Dis* 2007; 13 :159-161.

2. Razafindratsimandresy R, Jeanmaire EM, Counor D, Vasconcelos PF, Sall AA and Reynes JM. Partial molecular characterization of alphaherpesviruses isolated from tropical bats. *J Gen Virol* 2009; 90 : 44-47.

lèvements sont encore en cours d'investigation. L'herpesvirus a été recherché par PCR dans 10 des 40 surnageants de cultures présentant l'ECP : l'infection par l'herpesvirus a été confirmée dans ces 10 cas. La confirmation d'une infection par "notre" herpesvirus reste à faire pour les 30 autres surnageants.

En conclusion, aucun paramyxovirus n'a pu être encore détecté dans les prélèvements récoltés.

## Volet 2 : Lyssavirus et chauves-souris

Sur tous les continents, les chauves-souris hébergent et transmettent des lyssavirus. En 2006, la détection d'un lyssavirus circulant chez les chauves-souris à Madagascar avait été tentée sur des prélèvements pharyngés et des caillots sanguins obtenus lors d'études transversale et longitudinale, par isolement de virus sur souriceaux nouveaux-nés et par recherche de génome viral (voir rapport annuel 2006). Aucun lyssavirus n'avait été détecté. Une étude sérologique avait été effectuée en 2007 dans le cadre du suivi des deux colonies d'*Eidolon dupreanum* à Angavokely et Angavobe. Elle a montré que le lyssavirus africain Lagos-Bat (LBV) avait vraisemblablement circulé dans ces deux colonies (mise en évidence des anticorps neutralisants LBV).

L'enquête sérologique a été renouvelée fin 2008. L'Unité de Recherche et d'Expertise Dynamique des Lyssavirus et Adaptation à l'Hôte de l'Institut Pasteur à Paris a recherché ce type d'anticorps, par la technique rapide de réduction de foyers fluorescents, dans 151 sérums de 73 individus de l'espèce *Eidolon dupreanum* prélevés 2 à 4 fois. Aucun anticorps neutralisant dirigé contre LBV n'a été détecté dans ces sérums. Néanmoins, en tenant compte des résultats positifs obtenus l'an dernier pour les animaux dont d'autres sérums ont été testés cette année, nous observons deux séroconversions : l'animal bouclé 2149 n'a pas d'anticorps en avril, juin, juillet mais en a eu en décembre 2006 et l'animal 2170 n'en a pas en mai mais en a eu en septembre 2006. Trois animaux perdent leurs anticorps (l'ani-

mal 2063 entre mai 2006 et novembre 2006, l'animal 2100 entre avril 2006 et juillet 2008, l'animal 2327 entre octobre 2006 et octobre 2008).

Nous avons continué à tenter d'isoler le lyssavirus responsable de la séropositivité des animaux à partir des prélèvements collectés en janvier et avril/mai 2009 dans le cadre d'une autorisation de recherche.

Les prélèvements pharyngés des captures de janvier 2009 et avril/mai 2009 ont été regroupés en 12 pools (5 en janvier 2009 et 7 en avril/mai 2009). La détection de génome de lyssavirus a été négative pour tous les pools. Les tentatives d'isolement sur souriceaux nouveaux-nés se sont révélées négatives pour 4 pools (collecte de janvier 2009), le 5<sup>ème</sup> pool est toujours en cours d'investigation (P71G). Enfin concernant les 7 pools (P76G à P82G) pharyngés des campagnes de capture d'avril/mai 2009, les tentatives d'isolement sur souriceaux nouveaux-nés sont en cours.

Les caillots sanguins de la campagne de janvier 2009 et avril/mai 2009 ont été également traités par pools (11 pools, 4 en janvier 2009 et 7 en avril/mai 2009). La détection de génome de lyssavirus est négative pour tous les pools. Les tentatives d'isolement sur souriceaux nouveaux-nés sont négatives pour les pools constitués des prélèvements effectués en janvier 2009 et sont en cours pour les pools constitués des prélèvements effectués en avril/mai 2009 (P113C à P119C).

En conclusion, aucun lyssavirus n'a pu être encore détecté dans les prélèvements récoltés.

A ce stade, les colonies d'Angavokely et Angavobe ont été trouvées infectées par :

- l'*Orbivirus Ife*, déjà isolé en Afrique continentale d'*Eidolon helvum*
- le flavivirus Dakar Bat isolé également en Afrique continentale de plusieurs espèces de chauves-souris
- l'alphaherpesvirus que nous avons récemment caractérisé et qui a été également isolé dans les années 70 au Cameroun de l'espèce *Eidolon helvum*.

---

## ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

(voir page 65)

---

---

# EPIDEMIOLOGIE

---

---

## RESPONSABLES SCIENTIFIQUES

- **V Richard**, médecin épidémiologiste, responsable de l'unité
- **M Ratsitorahina**, médecin, adjoint, cellule étude clinique
- **F Rakotomanana**, médecin PH.D, responsable de la cellule SIG/Santé Climat
- **R Randremanana**, médecin, responsable de la cellule modélisation

## SCIENTIFIQUES ASSOCIES

- **CE Ramarokoto, S Rajatonirina, A Randrianantenaina, V Raharimanga**, médecins d'étude clinique
- **L Randrioanasolo**, médecin responsable du réseau de surveillance sentinelle

## COLLABORATIONS

- Direction des urgences et de la lutte contre les Maladies (DULM)  
. Service de lutte contre les maladies émergentes et ré-émergentes (SLMER)
- Direction de la veille et de surveillance épidémiologique (DVSE)

## SOUTIENS FINANCIERS

- DHHS
- Fondation TOTAL
- PMI/USAID/RTI-santenet2
- Ministère des Affaires Etrangères Français
- Institut Pasteur de Madagascar.

---

## DECOMPOSITION DU PROGRAMME

### ACTIVITES DE RECHERCHE

- **Diarrhées infantiles à Madagascar**
- **Portage rectal des entérobactéries productrices de beta-lactamase à spectre étendu en milieu communautaire à Antananarivo**
- **Epidémiologie des campylobacter et facteurs de risque des diarrhées à campylobacter**

### ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE (voir page 81)

- **Réseau de surveillance sentinelle**
-

- *Organisation de l'Unité*

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

- *la surveillance épidémiologique avec notamment l'animation du réseau sentinelle de surveillance des maladies à potentiel épidémique et le développement à terme de modèles temporels (méthode de Box-Jenkins)*
- *les modélisations spatio-temporelles et méthodes bayésiennes s'appuyant sur les systèmes d'information géographique appliquée à la santé,*
- *le monitoring d'études cliniques, de l'écriture du protocole jusqu'à l'analyse des données et la publication des résultats,*
- *la gestion des bases de données de l'ensemble de l'Institut Pasteur de Madagascar.*

*En terme de formation, l'Unité d'Epidémiologie mène des activités de formation en interne pour améliorer le niveau de compétence des cadres qui la constituent mais accueille aussi régulièrement des stagiaires malgaches et étrangers dans le cadre de Master, de travaux de thèses d'exercices et thèses d'université. Le personnel de l'Unité participent également à l'Atelier International sur le Paludisme qui se déroule chaque année pendant 6 semaines à l'Institut Pasteur de Madagascar.*

- *Relation avec les autres Unités de Recherche.*

*L'Unité d'Epidémiologie ne peut bien entendu se satisfaire à elle-même et collabore naturellement avec les autres unités au travers de projets de recherche communs. Depuis 2007, l'ensemble des projets de recherche des différentes Unités qui demande l'expertise de l'Unité d'Epidémiologie sont discutés et élaborés en commun afin d'éviter d'avoir à analyser des données biaisées ou inexploitables.*

- *Appui au Ministère de la santé*

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

*Dans le cadre d'un partenariat avec le Ministère de la Santé, l'Unité d'Epidémiologie anime également un réseau de surveillance sentinelle des maladies à potentiel épidémique.*

## ACTIVITES DE RECHERCHE

### DIARRHÉES INFANTILES À MADAGASCAR

Les diarrhées constituent, comme dans les autres pays de la zone intertropicale, un problème majeur de santé publique surtout chez les jeunes enfants. Les diarrhées virales (rotavirus et adénovirus) semblent les plus fréquentes mais des épidémies de diarrhées d'origine bactérienne surviennent fréquemment en saison des pluies. Les épidémies de dysenterie représentaient en 1998 le motif d'alerte épidémiologique le plus fréquent à Madagascar.

La structure multidisciplinaire de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) a offert l'opportunité d'une étude transversale sur l'ensemble du pays pour renforcer ces connaissances dans le domaine de la diarrhée communautaire de l'enfant de moins de 5 ans.

L'objectif principal était de déterminer la prévalence dans différents sites des principaux microorganismes identifiés chez les enfants diarrhéiques. Les objectifs secondaires étaient d'évaluer les spécificités des souches circulantes (antibio-résistance bactérienne notamment), leur responsabilité dans la diarrhée (pathogénicité) et de rechercher les facteurs liés à leur portage.

### Matériel et méthodes

14 districts ont été choisis en fonction des faciès climatiques du pays parmi l'ensemble des districts des 6 provinces. Il a été mobilisé pour cette étude deux équipes de l'IPM constituées d'un biologiste (ou technicien de laboratoire) et d'un médecin. Les missions sur chaque site ont duré de 2 à 3 semaines. Une recherche active des cas a été réalisée en collaboration avec les personnels de santé des centres de santé de base de la région. L'étude s'est déroulée de février 2008 à mai 2009, en saison des pluies pour chacun des sites.

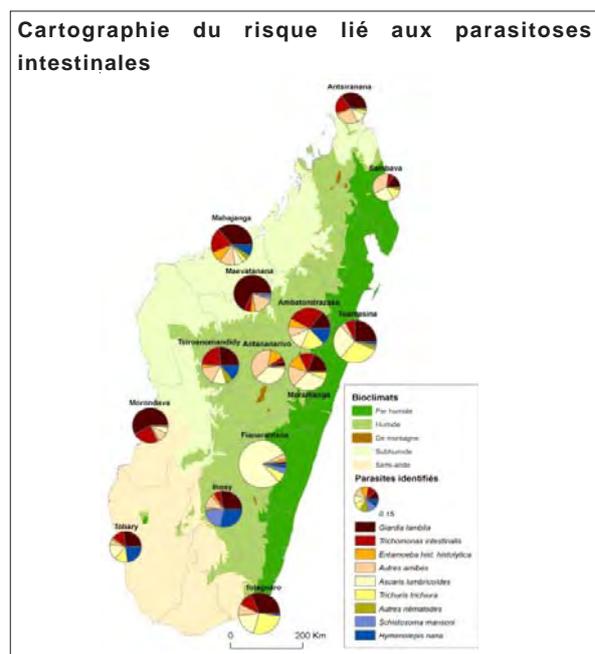
Sur chaque site 150 enfants de moins de 5 ans présentant une diarrhée aiguë (ayant débuté dans les 48h00) et d'origine communautaire (exclusion des patients hospitalisés), et d'origine familiale différente (exclusion des épidémies et TIAC) ont été inclus dans l'étude ainsi que 50 témoins du même âge mais ne présentant pas de diarrhée. La recherche des agents responsables de ces diarrhées a été effectuée de façon identique dans chaque centre pour chaque échantillon par les équipes de l'IPM. Les analyses microbiologiques ont été réalisées en partie par un laboratoire mobile détaché du laboratoire de référence de l'IPM, et en partie sur le site de l'IPM.

Pour permettre d'étudier les facteurs de risque des patients au cours de l'étude, certaines informations sur les patients ont été recueillies : âge, sexe, lieu et type d'habitation, confort de l'habitat, éventuel échec d'une antibiothérapie antérieure récente.

Les prévalences de chaque microorganisme chez les cas ont été estimées par site avec leur intervalle de confiance à 95%.

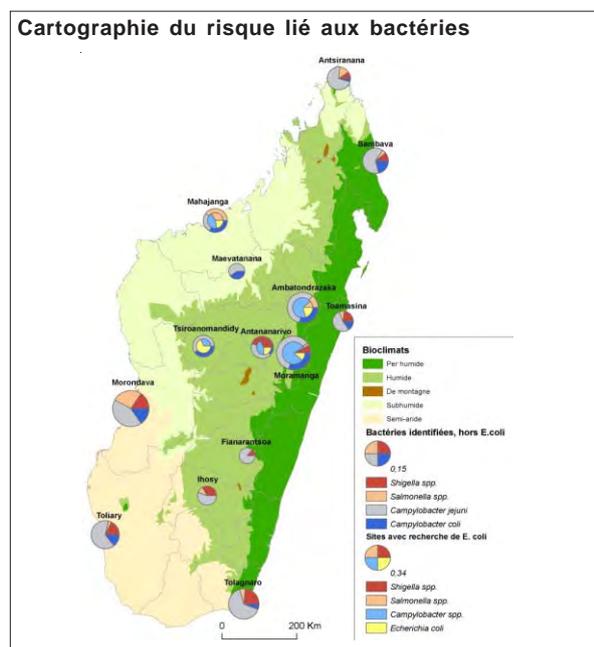
### Résultats

Le portage parasitaire était très fréquent et croissant avec l'âge chez les enfants malgaches (35,5% des enfants étaient parasités). Les parasites les plus fréquents étaient *Giardia lamblia* et *Trichomonas intestinalis*, significativement liés à la diarrhée. La fraction attribuable aux parasites dans la diarrhée communautaire de l'enfant était de 23,9% en milieu urbain et 17,1% en milieu rural. Le portage parasitaire était lié au niveau socio-économique, à l'âge de l'enfant et à la zone bioclimatique.



Les prévalences observées de *Salmonella* spp. et *Shigella* spp. étaient de 1,6% alors que celle de *Campylobacter* était de 10,8% dans l'échantillon global. La seule bactérie liée à la diarrhée était *Shigella* spp., uniquement en milieu rural. Le portage de *Shigella* spp. était plus important dans les zones côtières et en cas d'eau de boisson non contrôlée, et celui de *Campylobacter* spp. était plus important entre 6 et 12 mois, et en milieu rural. Presque toutes les *Salmonella* spp. étaient sauvages alors que 100% des *Shigella* spp.

et 75% des *E. coli* montraient une résistance au cotrimoxazole et respectivement 75% et 63% sécrétaient une pénicillinase. Une résistance de bas niveau aux quinolones a été observée chez 17% des *E. coli*.



La prévalence des diarrhées virales encore mal documentée semble moins importante qu'attendue. (Rotavirus 6,0%, Adeno 5,7%, Astro 3,6%)

### Conclusion

La réalisation de cette étude s'est confrontée à des difficultés à la fois logistiques du fait des contraintes de terrain et des exigences microbiologiques. Néanmoins, elle se distingue par l'originalité de son dessin et l'utilité clinique de ses résultats. Elle apporte pour la première fois depuis 20 ans des données précises sur l'écologie microbienne dans le cadre des diarrhées infantiles à Madagascar. C'est la première fois que des données aussi précises sont obtenues dans le domaine des diarrhées communautaires et à l'échelle de tout le pays.

Les étiologies parasitaires sont importantes dans la diarrhée communautaire de l'enfant de moins de 5 ans, pouvant justifier d'un déparasitage systématique après l'âge de un an dans cette situation.

Du fait de la prévalence plus faible des bactéries entéropathogènes, cette étude ne peut pas conclure sur leur rôle dans les diarrhées. En revanche, l'augmentation des résistances aux antibiotiques d'usage courant est préoccupante. Elle remet en cause les antibiotiques couramment utilisés en traitement probabiliste à Madagascar comme le cotrimoxazole et révèle l'urgence de mener une réflexion de fond sur le dilemme entre faisabilité, efficacité et risques écologiques des traitements probabilistes dans les pays où le plateau technique ne

permet pas l'optimisation des traitements.

Des études approfondies sur les microorganismes moins fréquents comme les bactéries, et sur les conséquences à moyen et long terme des diarrhées de l'enfant sont nécessaires. Du fait de l'amélioration progressive des diarrhées aiguës, ce sont les conséquences des diarrhées répétées ou persistantes qui sont à craindre. L'impact immédiat des maladies diarrhéiques infantiles est maintenant évident (morbidité, absentéisme scolaire, hospitalisations, décès). Mais les conséquences indirectes (absentéisme professionnel des parents, coût socio-économique) et surtout à plus long terme ont probablement un impact majeur et sous-évalué sur la santé publique. Ainsi, l'étude plus approfondie des conséquences d'une sorte d'entéropathie environnementale est indispensable : modification chronique de la population bactérienne, altération de la barrière immunitaire muqueuse (obstacle potentiel aux vaccinations orales), dénutrition, immunodépression et retards cognitifs potentiels de l'enfant sont autant de problèmes à évaluer.

Pour cela, l'intérêt d'un site de recherche longitudinal comme celui qui est envisagé à Moramanga est évident. Il nécessitera la collaboration d'une équipe multidisciplinaire regroupant à terme et au mieux épidémiologistes, biostatisticiens, cliniciens, microbiologistes, démographes, sociologues sans compter les logisticiens et l'apport potentiels d'autres disciplines comme l'immunologie.

### PORTAGE RECTAL DES ENTÉROBACTERIES PRODUCTRICES DE BETA-LACTAMASE À SPECTRE ÉTENDU EN MILIEU COMMUNAUTAIRE À ANTANANARIVO

Plusieurs facteurs peuvent expliquer la prévalence élevée de la résistance bactérienne dans les pays à faibles ressources, parmi eux, l'usage incontrôlé des antibiotiques mais aussi les mauvaises conditions d'hygiène. La flore intestinale représente une source potentielle de germes multi résistants puisqu'elle est un site favorable pour le transfert des gènes résistants à partir des flores commensales vers les microorganismes virulents. L'augmentation de portage dans la communauté augmente la dissémination dans l'environnement des bacilles multirésistants et facilite ainsi la transmission interhumaine. Aussi, les études sur le portage de germes multirésistants en dehors des hôpitaux sont nécessaires pour connaître leur diffusion dans la communauté et les facteurs de risque associés et pour proposer des mesures de prévention afin de limiter leur introduction dans le milieu hospitalier.

Les objectifs de l'étude étaient d'estimer la fréquence

du portage asymptomatique (intestinal) d'entérobactéries productrices de BLSE et d'étudier les facteurs de risque, notamment le niveau socio-économique, et l'importance du risque fécal dans la transmission de ces bactéries.

### Méthodes

Les personnes incluses dans l'étude ont été contactées lors d'une première consultation au niveau de trois centres de santé. Les centres de santé ont été sélectionnés en fonction du niveau socio-économique de leur bassin de recrutement. Un écouvillonnage rectal était alors pratiqué et un ensemencement réalisé sur milieu de Drigalski contenant 3microg/ml de ceftazidime.

### Résultats

Au total 493 patients ont été inclus dans l'étude, 48 (9,7%) d'entre eux étaient porteurs de BLSE. Sur les 53 souches, il a été retrouvé : 31 *E. Coli*, 14 *Kl. pneumonia*, 3 *E. Cloacae*, 3 *C. Freundii*, 1 *Kluyvera*, 1 *Pantoea*.

Les facteurs de risque de portage retrouvés en analyse univarié étaient le niveau socio-économique, le niveau scolaire du chef de famille et la profession. En analyse multivariée, seule la profession du chef de famille était rattachée au portage.

En conclusion, le portage en milieu communautaire de BLSE est d'autant plus élevé que le niveau socio-économique des populations est bas.

## EPIDÉMIOLOGIE DES CAMPYLOBACTER ET FACTEURS DE RISQUE DES DIARRHÉES À CAMPYLOBACTER

Les Campylobacters sont une des principales étiologies des diarrhées dans le monde avec près de 400 millions de cas par an. Cependant, l'épidémiologie des diarrhées à Campylobacter des pays développés semble différente de celle des pays en voie de développement. Dans les pays développés, les enfants et à la fois les adultes présentent un risque d'infection, alors que dans les pays en développement où les Campylobacters sont endémiques, l'infection est limitée aux enfants, suggérant alors un haut niveau d'exposition tôt dans la vie et l'acquisition d'une immunité.

Nous nous proposons de mener une étude qui a pour objectifs d'étudier l'épidémiologie des Campylobacters et d'identifier les facteurs de risque potentiels de diarrhées à Campylobacter à Moramanga, et de plus d'étudier s'il y existe une association entre excrétion de Campylobacters et survenue de diarrhée, et de mesurer la durée du portage de Campylobacter après un épisode diarrhéiques.

Deux villages contigus, Befotsy et Ampitambe, situé respectivement à 8 et 11 km de Moramanga, et comprenant 1 213 et 1 898 habitants ont été sélectionnés pour l'étude. L'étude transversale menée en 2008-2009 a révélé une forte prévalence d'infection à Campylobacter dans ces villages. Dans un premier temps, le recensement de l'ensemble des foyers des deux villages a été réalisé en relevant des données socio-économiques et des données sur la possession d'animaux. Chaque foyer a bénéficié d'un relevé GPS.

Une étude sur les comportements des parents vis-à-vis de la prise en charge des diarrhées est également menée.

Est inclus dans l'étude, après consentement éclairé du responsable de l'enfant, tout foyer dans lequel vit un enfant de moins de 24 mois. Un agent de santé communautaire formé est chargé de contacter chacune des familles 2 fois par semaine pour identifier les cas présentant ou ayant présenté un épisode diarrhéique.

En cas de diarrhée en cours ou de diarrhée récente, un écouvillonnage rectal et un échantillon de selles sont collectés au niveau d'un laboratoire mobile mis en place sur le site d'étude et ensemencés immédiatement. En cas d'absence de l'enfant, une visite est programmée le lendemain.

Tous les 2 mois, pour chaque enfant de la cohorte, une biométrie systématique est réalisée et un écouvillonnage rectal ainsi qu'un prélèvement de selles sont collectés.

Tous les 6 mois, une enquête environnementale est réalisée dans chaque foyer : prélèvements d'eau de boisson et information sur le niveau d'hygiène (selles sur le sol...).

---

## ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

(voir page 81)

---

---

# **ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE**

---

---

---

---

# ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

---

---

## **Considérations générales**

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

*Par ailleurs, des missions d'expertise ou des interventions peuvent être effectuées à la demande du Ministère de la Santé. 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
- Centre National de Référence OMS pour la Grippe
- Laboratoire National de Référence OMS pour la Poliomyélite
- Laboratoire National de Référence OMS pour la Rougeole
  
- Laboratoire National de Référence des Mycobactéries
- Laboratoire Central de la Bilharziose
- Laboratoire Central pour la Peste
- Laboratoire National de Référence pour la Rage
- Laboratoire de Référence pour le VIH/SIDA
- Centre de Référence National pour les Arbovirus et Virus des Fièvres Hémorragiques
- Laboratoire de Référence National d'Analyse des Eaux dans les Industries Agro-alimentaires et de Contrôle des Denrées Animales ou d'Origine Animale
- Centre National de Référence pour *Vibrio cholerae*, *Salmonella* et *Shigella*

# Activités des Centres de Référence



## 1- CENTRE COLLABORATEUR OMS POUR LA PESTE

### 1.1 Surveillance de la peste humaine

#### • Données de laboratoire et situation épidémiologique

IPM : M Ratsitorahina, C Raharimanana, V Andrianaivoarimanana, V Richard, M Rajerison, L Rahalison

LCP : M Ratsimba, N Randriananja, L Ralafiarisoa

MiniSan/PF : DULM/SLME/DivPeste - SSD foyers de peste

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'Institut Pasteur de Madagascar, est chargé d'assurer cette surveillance du moins pour le volet diagnostic biologique. Toutes les déclarations venant des FS des cas suspects de peste munies en principe de prélèvements parviennent au LCP. Le diagnostic de routine au laboratoire est réalisé par les méthodes de la bactériologie (culture et inoculation à la souris) et le TDRA (Test de Diagnostic Rapide de Détection d'Antigène F1). Depuis la restriction budgétaire du LCP (2006), ce dernier est utilisé comme test de screening vu sa bonne performance. Seuls les prélèvements TDRA+ sont mis en culture. 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 2009 (données du 09/02/2009), 303 cas suspects (535 en 2008) étaient déclarés au laboratoire par 23 Services de Santé de District (SSD) (tableau I) ; notons que deux nouveaux Formations Sanitaires ont déclaré leur premier cas suspect : Voenana du SSD d'Ambatofinandrahana et Miandrindra du SSD d'Arivonimamo. Le taux de confirmation (avec isolement de souche) était de 51,9% soit 95 confirmés/183 testés (57,3% en 2008; 42,8% en 2007), le taux de TDRA positifs était de 63,9% soit 183 positifs /286 prélevés (73,1% en 2008; 72,8% en 2007). Le taux de prélèvement en 2009 était 94,3% (vs 91,6 % en 2008; 82,5%

en 2007), 19/23 (21/31 en 2008) SSPFD déclarant des cas avaient ce taux supérieur ou égal à la moyenne nationale. Le TDRA est aujourd'hui reconnu comme test de confirmation pour les pays d'endémie pesteuse comme Madagascar. Toute méthode confondue, on constate une amélioration progressive du taux confirmation de la peste à Madagascar. Onze SSPFD (15 en 2008, 13 en 2007) étaient particulièrement performants en terme de taux de prélèvement et taux de confirmation (supérieurs aux moyennes nationales). Les indicateurs de performance de programme sont donnés dans le tableau II.

Tableau I : Répartition des cas de peste déclarés en 2009 (arrêté le 09/02/2010 date de réception) par Service de Santé et du Planning Familial de District et résultats au laboratoire (bactériologie et TDRA)

SSDPF	NP	%	Bactériologie					Total	Total confirmation*
			prélevés	C	N	X	P		
Ambalavao		100,0	5	6	5	11	5	16	68,8
Ambatofinandrahana		100,0	2	5	6	7	6	13	53,9
Ambohidratrimo		100,0	1	3		4		4	100,0
Ambositra		100,0		3	2	3	2	5	60,0
Amparafaravola	7	30,0	2	1		3		10	100,0
Ankazobe		100,0	13		1	13	1	14	92,9
Anosibe An'ala		100,0	1			1		1	100,0
Anta-Atsimondrano	1	50,0		1		1		2	100,0
Anta-Avaradrano		100,0	2	1	2	3	2	5	60,0
Antanifotsy		100,0	3			3		3	100,0
Anta-Renivohitra		100,0	2	2	4	4	4	8	50,0
Antsirabe li		100,0	2	1		3		3	100,0
Arivonimamo		100,0	10	5	4	15	4	19	78,9
Fandriana		100,0	4	3		7		7	100,0
Faratsiho		100,0	3	1		4		4	100,0
Fenoarivo Afovoany		100,0	8	1	9	9	9	18	50,0
Fianarantsoa I		100,0	1	1		2		2	100,0
Manandriana	1	90,9	3	3	4	6	4	11	60,0
Manjakandriana		100,0	4	5	2	9	2	11	81,8
Miarinarivo		100,0	11	19	15	30	15	45	66,7
Soavinandriana		100,0	3	2		5		5	100,0
Tsaratana		100,0	2	10	4	12	4	16	75,0
Tsiroanomandidy	8	90,1	13	15	45	28	45	81	38,4
<b>Total</b>	<b>17</b>	<b>94,0</b>	<b>95</b>	<b>88</b>	<b>103</b>	<b>183</b>	<b>103</b>	<b>303</b>	<b>79,8</b>

SSDPF : Service de Santé et du Planning Familial

TDRA : Test de Diagnostic Rapide de détection d'antigène F1

LCP laboratoire Central de la Peste

\* taux de confirmation par tout test confondu

NP: non prélevé X non testé C confirmé P positif N négatif

Tableau II : Récapitulatif des indicateurs de programme peste de 2004 à 2009 (arrêté le 9 février 2010)

Indicateurs	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Nb cas déclarés	1214	421	412	412	535	303
% cas prélevés	96,5	90	91,5	91,5	91,6	94,4
Taux de confirmation par culture	35,8	31,1	40	40	57,3	51,9
Taux de confirmation par TDRA	63	57	62,6	62,6	73,1	63,9
Taux de peste pulmonaire cas déclarés (% forme pulmonaire cas confirmés)	<b>2,8</b>	<b>3,6</b>	<b>3,3</b>	<b>3,3</b>	<b>3,4</b>	<b>6,3</b>
Létalité globale %	8,1	8,3	12,4	12,4	13,4	13,1
Létalité parmi les cas confirmés %	<b>14,8</b>	<b>24</b>	<b>16,5</b>	<b>16,5</b>	<b>16,1</b>	<b>20</b>
Nb SSPFD déclarants	34	27	32	32	3,1	23

Le sex-ratio H/F était égal à 1,83 (196/107) dans l'ensemble des cas déclarés, il était de 1,96 (63/32) dans l'ensemble des cas confirmés par la bactériologie.

Chez les cas déclarés, l'âge moyen était de 17 ans avec une étendue de 1-76 ans et l'âge médian était de 12 ans. Chez les cas confirmés, l'âge moyen était de 20 ans avec une étendue de 1-60 ans et un âge médian de 14 ans.

La peste bubonique représentait 86,9% (253/291) des cas déclarés (92,7% en 2008; 94,6 % en 2007). Chez les cas confirmés, le taux de peste bubonique était de 91,6%.

La peste pulmonaire déclarée était de 13,1% (7,3% en 2008; 5,4% en 2007). Chez les cas confirmés, elle était de 6,3% (vs 3,4% en 2008; 2,9% en 2007). Six SSD ont déclaré en tout 8 cas de peste pulmonaire dont 6 étaient positifs en culture et ou TDR. Il s'agit de : Amparafaravola, Fenoarivo Afovoany, Miarinarivo, Soavinandriana, Tsaratanana et Tsiroanomandidy.

La létalité chez les cas déclarés était de 13;1% (pratiquement le même qu'en 2008 et 2007) et de 20% chez les cas confirmés (aux environs de 16% en 2008 et 2007). Sur les 39 décès déclarés, 19 étaient confirmés en bactériologie et/ou positifs en TDRA, 13 cas négatifs, 1 cas non prélevé.

La répartition des cas de peste déclarés par district et selon les résultats bactériologique et Test de Diagnostic Rapide est présentée dans le tableau I.

## Discussions

En 2009, la situation épidémiologique de la peste humaine à Madagascar a été marquée par :

- une baisse d'environ 56% du nombre de déclaration de cas de peste et du nombre de cas confirmés
- une diminution du nombre de SSD concernés
- une augmentation des indicateurs, tels la létalité et la forme pulmonaire chez les cas avérés de peste et ce malgré la diminution significative des cas déclarés.

Le programme national de lutte contre la peste a été renforcé depuis plus de 10 ans. La contradiction entre la baisse du nombre de déclarations et l'évolution de certains indicateurs de performance de programme telle la hausse de la létalité chez les cas avérés de peste ou la diminution du taux de confirmation argumente aujourd'hui l'absolue nécessité de pouvoir évaluer le programme.

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

Une telle évaluation permettrait en partie de savoir

si la tendance épidémiologique observée ces dernières années est une conséquence de la performance du programme national de lutte contre la peste à Madagascar ou si d'autres éléments viendraient en explication de l'évolution des différents indicateurs. Une baisse aussi «drastique» de la notification de cas surprend en effet. Des investigations sur les éventuelles causes de cette diminution, une analyse des différents facteurs pouvant influencer l'incidence de la maladie tel le climat méritent d'être menées.

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

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

LCP : M Ratsimba, N Randriananja, L Ralafiarisoa

MinSan/PF : DULMT/SLME/DivPeste - SSD foyers de peste

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

Quatre-vingt dix huit (98) souches de *Y. pestis* dont 95 issues de prélèvements humains (88 pus de bubons, 4 crachats, 2 poumons et 1 foie) et 3 issues de rates de rats, ont été isolées au LCP en 2009.

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

La biothèque de l'Unité Peste est aujourd'hui riche de près de 5 700 souches de *Y. pestis* provenant d'humains, de réservoirs et de vecteurs.

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

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

LCP : M Ratsimba, N Randriananja, L Ralafiarisoa

MinSAN/PF : DULMT/SLME/DivPeste – DRS Itasy, Bongolava, Haute Mahatsiatra, Amoron'i Mania, Analamanga

## Objectifs

Depuis la diffusion en 2002 du TDRA de la peste dans les foyers endémiques à Madagascar, le LCP super-

viser 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.

### **Méthode**

Cette supervision consiste à comparer les résultats des tests effectués sur le même prélèvement au niveau du LCP et au niveau de la périphérie. Les investigations sur le terrain effectuées en 2009 étaient basées sur une analyse rétrospective des données de janvier à décembre 2008 où 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) ont été remarqués. Les DRS concernées par ces particularités ont donc été visitées en priorité, 5 régions ont été sélectionnées : Amoron'i Mania, Haute Mahatsiatra, Itasy, Bongolava et Analamanga. Une demande a été envoyée aux responsables des DRS pour collecter tous les cahiers d'archivage des TDRA des FS concernées, ainsi que d'autres éléments permettant la réalisation de ce suivi (exemplaire de fiches TLO, cahier de stock TDRA, ...). Les descentes au niveau des régions à partir de mai 2009 consistaient à :

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

### **Résultats**

Pour les cinq DRS concernées :

- l'analyse des données montre que les résultats des TDRA dans les FS n'étaient pas indiqués sur 20 notifications
- dix neuf déclarations ne sont pas accompagnées de prélèvements
- tous les prélèvements testés dans les FS et envoyés au LCP sont systématiquement re-testés par la bandelette au LCP. Une comparaison des résultats du TDRA des FS et du LCP a montré 56 cas discordants.

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

Au niveau des DRS, il nous a été possible de revoir quelques résultats de TDRA effectués au niveau du CSB

en consultant les cahiers d'archivage et les registres de notification de cas de peste de ces centres.

Ces consultations nous ont permis de ramener 5/56 résultats à la concordance. En effet, les discordances étaient dues à des erreurs de lecture (fortement positif lit négatif). Par contre, 4/56 résultats étaient restés discordants.

Il n'a pas été possible d'exploiter les autres résultats discordants.

### **Analyse des 39 notifications sans résultats TDRA et/ou sans prélèvement**

L'exploitation des archives nous a permis de constater que 13 notifications avaient en fait des résultats de TDRA mais la transcription n'a pas été faite, 7 notifications restaient sans résultats. Selon les agents de santé, ceci était expliqué par une rupture de stock en bandelette ou des bandelettes périmées ou tout simplement le non archivage de résultat.

### **Conclusion**

Nous avons constaté des écarts entre données LCP et DRS. Les explications probables étaient diverses : des déclarations ne leur parviennent pas, cas finalement déclassés comme non pesteux après observation du résultat négatif au TDRA – 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.

## **1.2 Activités du Centre Collaborateur OMS Peste**

L'Unité peste a reconduit son mandat de Centre Collaborateur OMS pour la peste en juillet 2009 pour 4 ans. A ce titre, elle assure des services intéressants les programmes de l'OMS d'intérêt régional et mondial.

### **• Mission**

IPM : *Unités Peste, Epidémiologie, Entomologie*  
OMS Genève : *E Bertherat*

Une mission d'expertise en tant que consultant temporaire au titre de l'OMS a été effectuée par un membre de l'Unité Peste (voir missions et participation à des réunions scientifiques).

### **• Programme EQA**

IPM : *C Raharimanana, N Randriananja, L Ralafiarisoa, L Rahalison, M Rajerison*  
OMS Genève : *E Bertherat*  
OMS Lyon : *S Cognat*  
NHLS : *L Arntzen*

Un programme d'évaluation d'assurance qualité a été mis en place par l'OMS avec le National Health Laboratory Service (NHLS) Afrique du Sud depuis 2002, à l'attention des laboratoires africains qui font le diagnostic de la peste. Ce programme voit la participation de 17 laboratoires de 15 pays africains. Dans le cadre de ce programme, nous avons supervisé les activités de l'Unité Peste en tant que laboratoire référent. En 2009, 6 échantillons ont été testés.

#### • Appui à d'autres pays

##### - RDC

IPM : *Unité Peste*

Malteser International : *D Rakotoarison, A Kinzelbach*

Laboratoire de référence du District de l'Ituri, Bunia, RDC : *JC Shako*

OMS Genève : *E Bertherat*

En tant que Centre Collaborateur OMS Peste, l'Unité Peste de l'IPM a apporté son soutien à la RDC qui est un des foyers de peste les plus actifs au monde. Cet appui se fait soit via l'OMS soit via des programmes financés par des ONG comme Malteser International. Avec ce dernier et le laboratoire de référence du District de l'Ituri, un appui à la RDC en matière de diagnostic biologique de confirmation de la peste et ce dans le cadre d'un programme de validation de l'utilisation des TDRA est en place depuis 2007.

En 2009, l'Unité Peste avait reçu 41 prélèvements de cas suspects de peste bubonique ou pulmonaire dont 2 cas confirmés par la bactériologie.

##### - Libye

IPM : *Unité Peste*

Centre National de Référence-CCOMS : *E Carniel*

OMS Genève : *E Bertherat*

C'est toujours dans le cadre de l'activité de Centre Collaborateur OMS, que l'Unité Peste avait reçu 11 prélèvements (sérums, sang, pus de bubon ou isolat dans du carry blair) provenant de 5 cas suspects de peste d'une épidémie de peste de Toubruk (Libye) en juin 2009. Trois cas avaient été confirmés par la bactériologie.



## 2- LABORATOIRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE OMS POUR LA POLIOMYÉLITE

*R Razafindratsimandresy, S Rabemanantsoa, NS Andriamamonjy*

Le laboratoire pour la poliomyélite de l'Institut Pasteur de Madagascar est un Centre de Référence Inter-Pays qui assure le diagnostic d'infection par les poliovirus des cas de paralysies flasques aiguës (PFA) détectées sur l'île Maurice, aux Seychelles, dans l'Union des Comores

et à Madagascar. Suite à l'audit externe commandité par l'OMS en octobre 2008, notre laboratoire a été accrédité pour la technique de différenciation intratypique (DIT) des poliovirus. En conséquence, les isolats obtenus sur cellules L20B (cellules murines exprimant le récepteur spécifique du poliovirus CD155) n'ont plus besoin d'être envoyés au Laboratoire Régional de Référence (National Institute for Communicable Diseases) à Johannesburg pour distinguer l'origine des souches (vaccinale, sauvage ou entérovirus non poliomyélitique (ENPV)).

Les tentatives d'isolement de poliovirus dans les échantillons cliniques ont été effectuées selon l'algorithme réduisant le délai de résultat de 28 à 14 jours. Cet algorithme préconise de n'identifier que les virus isolés sur cellules L20B mais après avoir augmenté le titre viral par un passage sur cellules RD (lignées continues de rhabdomyosarcome humain sensibles à tous les Entérovirus). Pour définir le sérotype et l'origine vaccinale, dérivée du vaccin (VDPV) ou sauvage du poliovirus, notre laboratoire utilise 2 méthodes de différenciation intratypique préconisées par l'OMS (RT-PCR et ELISA). Nous sommes en train de mettre en place la 3<sup>ème</sup> méthode utilisant la technique de RT-PCR en temps réel. Cette technique permet de différencier les isolats de type VDPV. Ces trois méthodes sont venues compléter celle utilisée auparavant par le laboratoire (RT-PCR RFLP). Au final, le délai de résultat depuis la tentative d'isolement jusqu'à la différenciation intratypique du poliovirus a été ramené de 42 à 21 jours.

En 2009, le laboratoire a analysé 438 échantillons de selles issus de 220 cas de PFA : 9 cas (17 selles) étaient de l'Union des Comores, 210 cas dont 1 sans 2<sup>ème</sup> prélèvement (419 selles) de Madagascar et 1 cas (2 selles) de l'île Maurice. Les Seychelles n'ont pas notifié de cas pendant l'année 2009 (tableau I). Pour les prélèvements en provenance de l'Union des Comores, il manquait la 2<sup>ème</sup> selle pour 1 cas et pour un autre cas, le délai de la collecte entre les 2 selles était supérieur à 14 jours par rapport à la date du début de la paralysie. Les prélèvements en provenance de l'île Maurice étaient tous conformes (2 selles pour un cas collectées dans les 14 jours après le début de la maladie). Aucune de ces selles n'a été positive pour les virus testés. Pour l'Union des Comores, sur 3 selles de 2 cas de PFA, 3 entérovirus ont pu être isolés ; 1 poliovirus (PV) de type Sabin 1 et 2 PV de type Sabin 2. A Madagascar, 6 selles de 5 cas de PFA ont été trouvées infectées par 8 virus. Sur un cas en provenance du district de Morombe (Toliara), nous avons pu isoler 1 PV de type Sabin 1, 1 PV de type Sabin 2 et 2 PV de type Sabin 3 (1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> selle). Chez un cas provenant du district de Vatomanjy (Toamasina), 1 PV de type Sabin 3 a été isolé. Un (01) ENPV a été détecté

chez un cas en provenance de Mahanoro (Toamasina). Enfin, 2 non entérovirus (NEV) ont été isolés à partir de 2 cas différents cas provenant de Fianarantsoa II et d'Antananarivo Renivohitra

Le tableau II montre l'évolution des performances de la surveillance de laboratoire à Madagascar, pendant ces 4 dernières années par rapport aux critères de performance définis par l'OMS. Le nombre de cas de PFA en 2009 dépasse le niveau requis. Dans l'ensemble, les critères ont été respectés, mise à part la faible proportion d'échantillons de selles (64%) qui arrivent dans le laboratoire dans les 3 jours requis traduisant les difficultés d'acheminement des prélèvements vers le laboratoire. Cependant, ce chiffre est en amélioration constante depuis 2001. Parmi les cas de PFA, le taux d'isolement d'Entérovirus non poliomyélitique reste le même (6%) par rapport à l'année 2008. On note que les cas détectés ne sont pas représentatifs de tout le territoire car seulement 77 districts (69%) sur les 111 ont signalé au moins un cas (figure 1).

Tableau I : Récapitulatif par pays des cas de PFA et des souches isolées pendant la surveillance en 2009

Pays	Nb cas	Nb selles	Nb selles positives (cas)	Identification isolats
Union des Comores	9	17	3 (2)	1 Sabin 1 2 Sabin 2
Madagascar	210	419	6 (5)	1 Sabin 1 1 Sabin 2 3 Sabin 3 2 NEV ;
Ile Maurice	1	2	0 (0)	1 ENPV
Les Seychelles	0	0	0 (0)	0

NPEV: Non poliovirus entérovirus

NEV: Non entérovirus

Tableau II : Performance du laboratoire pendant la surveillance des PFA à Madagascar (2006-2009)

Critères	Performance attendue	2006	2007	2008	2009
Nb cas de PFA	88	176	183	183	210
Nbéchantillons analysés	176	351	364	364	419
Echantillons adéquats	≥ 80%	93%	94%	97%	96%
Réception au labo ≤ 3 jours	≥ 90%	60%	51%	54%	64%
Bonnes conditions	≥ 90%	94%	96%	92%	91%
Rendu des résultats ≤ 14 jours	≥ 80%	100%	77%	91%	94%
Entérovirus non polio isolés	≥ 10%	10%	5%	5%	6%
Poliovirus isolés	-	2*	6**	1***	5****
Envoi des souches de poliovirus ≤ 7 jours vers le labo régional	≥ 90%	100%	100%	100%	NA
Résultat "Proficiency test" 2009	≥ 90%	100%	100%	100%	95%

NA : non applicable

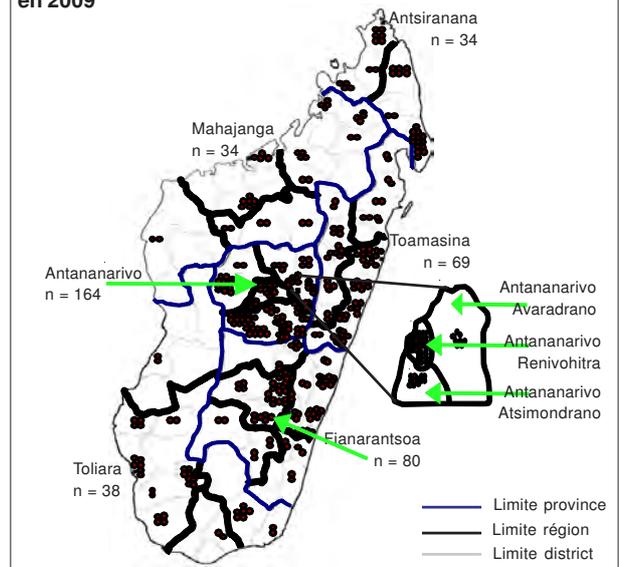
\* Les 2 souches de poliovirus ont été isolées à partir de 2 cas de PFA du district d'Ankazoabo (Toliara) et d'Ikalamavony (Fianarantsoa). Il s'agit de poliovirus vaccinal Sabin 2

\*\* Les 2 cas de PFA ont été trouvés infectés par un poliovirus : 1 cas dans le district de Tsiroanomandidy (Antananarivo) et 1 cas dans le district de Fenoarivo-Est (Toamasina). Six poliovirus de type vaccinal ont été isolés des selles de ces cas : 2 poliovirus Sabin 2 et 2 poliovirus Sabin 3 (mélange) pour le cas de Tsiroanomandidy, et 2 poliovirus Sabin 1 pour le cas de Fenoarivo-Est

\*\*\* Un (01) PV vaccinal de type 2 a été isolé à partir d'un cas de PFA venant du district de Beroroha (Toliara) :

\*\*\*\* Deux (02) cas de PFA ont été trouvés infectés par des poliovirus : un cas dans le district de Vatomaniry (Toamasina) avec un PV vaccinal de type 3 et un autre cas dans le district de Morombe (Toliara) avec un mélange des 3 PV vaccinaux dans la 1<sup>ère</sup> selle et 1 PV vaccinal de type 3 dans la 2<sup>ème</sup> selle.

Figure 1: Carte de distribution des 210 cas de PFA détectés à Madagascar et nombre de selles (n) notifié par province en 2009



### 3- LABORATOIRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE OMS POUR LA ROUGEOLE

R Razafindratsimandresy, AH Randriamanantena, J Razainirina

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

En 2009, le laboratoire a reçu 376 échantillons de sérum. Les conditions de réception des prélèvements étaient très bonnes puisque 96% des prélèvements ont été reçus à une température comprise entre 0 et 8°C. Malheureusement, les objectifs de performances en matière de réception des échantillons dans les 3 jours qui suivent le prélèvement ainsi que le taux d'adéquation des échantillons (prélèvements de sérums entre le 4<sup>ème</sup> et 28<sup>ème</sup> jours post-éruption) ont encore été très en dessous des objectifs attendus (tableau I). Sur le plan épidémiologique, nous observons que l'âge médian des patients suspects était de 7 ans (0 à 44 ans) avec un écart-type de 6,26 ans et un sex-ratio (M/F) de 0,86. Cent quatre-vingt seize (196) des 376 patients (52,12%) avaient des antécédents de vaccination contre la rougeole. Cent quinze (115) prélèvements ont été collectés dans les 3 jours qui suivent l'éruption, 259 dans les 4 à 28 jours et 2 au-delà de 28 jours. La figure 1 montre la répartition spatiale des 376 prélèvements de cas suspects de rougeole en 2009 ainsi que le nombre de cas par province. Cette répartition des cas n'est pas homogène

car il y a encore des districts “silencieux” (comme ceux des provinces de Mahajanga et Fianarantsoa). Sur les 111 districts, seulement 53 ont rapporté au moins un cas, soit 47,74%. Il faut souligner que l’absence de cas rapporté ne signifie pas l’absence de circulation du virus de la rougeole.

Tableau I : Performances de la surveillance de laboratoire de la rougeole à Madagascar en 2009

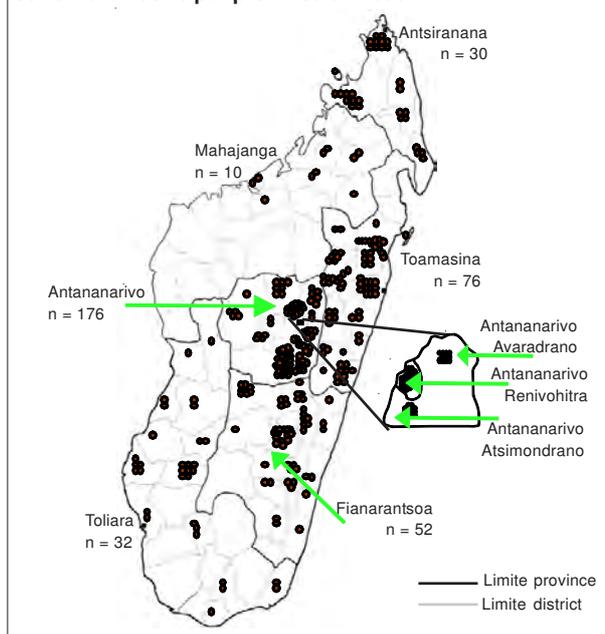
Critères	Performance attendue	2009 (%)
<b>Nb cas suspects de rougeole déclaré et prélevé</b>	358 cas attendus (2/100 000 habitants)	376 cas
<b>Echantillons adéquats (collecte entre 4 à 28 jours)</b>	> 90%	259 (69)
<b>Réception au labo ≤ 3 jours</b>	> 90%	115 (31)
<b>Rendu des résultats ≤ 7 jours</b>	> 90%	350 (93)
<b>Bonnes conditions des échantillons à réception</b>	> 90%	369 (96)
<b>Résultats IgM rougeole</b>		
- Positif	< 10%	0 (0)
- Négatif	-	371 (99)
- Douteux	-	5 (1)
<b>Résultats IgM rubéole</b>		
- Positif	-	173 (46)
- Négatif	-	180 (48)
- Douteux	-	23 (6)
<b>Résultat "Proficiency test"</b>		
- Rougeole	> 90%	NA
- Rubéole	> 90%	NA

Au niveau du Laboratoire, la recherche dans les sérums d’IgM dirigée spécifiquement contre les virus de la rougeole et de la rubéole a été effectuée par technique ELISA (kits de diagnostic Dade Behring fournis par l’OMS). Les IgM anti-rubéole ont été recherchées seulement quand les résultats de la recherche d’IgM anti-rougeole ont été négatifs. Pour la rougeole, les résultats de la recherche d’IgM anti-rougeole ont été négatifs pour 371 des 376 échantillons reçus. Cinq (5) résultats étaient douteux et la recherche des IgM anti-rubéole était douteuse pour 2 d’entre eux et négative pour les 3 autres. Aucun sérum tardif n’a pu être obtenu pour ces 5 cas afin de conclure définitivement. Il existe un risque d’obtenir des faux négatifs pour la rougeole dans 30% des cas prélevés avant le 3<sup>ème</sup> jour. Or parmi les 376 prélèvements reçus, 115 ont été collectés dans les 3 premiers jours post-éruption dont les 5 cas douteux en IgM anti-rougeole. Sur les 371 prélèvements négatifs en IgM anti-rougeole, 170 étaient positifs en IgM anti-rubéole et 21 ont donné des résultats douteux (confirmé deux fois). Nous n’avons pas eu de prélèvements tardifs pour ces 21 cas pour statuer.

Au final, 46% des cas suspects étaient associés à une infection récente par le virus de la rubéole indiquant la circulation active de ce virus chez les jeunes enfants. La distribution mensuelle des cas suspects et des cas probables de rougeole montre une saisonnalité avec un pic annuel se situant entre les mois d’octobre et novembre

correspondant à l’intersaison et le début de la saison des pluies. Conformément aux recommandations de l’OMS, 4 envois d’échantillons ont été organisés le 1<sup>er</sup> avril, le 16 juillet, le 15 octobre 2009 et le 19 janvier 2010 vers le Laboratoire Régional de Référence en Afrique du Sud à Johannesburg (National Institute for Communicable Diseases – Serology Laboratory). Les résultats étaient concordants dans 97,5% des cas pour la recherche d’IgM anti-rougeole. Un seul cas était discordant, mais cette discordance a été levée après que nous ayons testé un nouvel aliquote de sérum.

Figure 1 : Carte présentant la distribution des 376 prélèvements de cas suspects de rougeole à Madagascar et nombre notifié par province en 2009



#### 4- CENTRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE OMS POUR LA GRIPPE

*JM Héraud, A Orelle, N Razanajatovo, GM Razafitrimo*

Le laboratoire de la grippe de l’Institut Pasteur de Madagascar est reconnu par l’OMS depuis 1978, comme Centre National de Référence pour la Grippe (CNRG) après nomination par le Ministère de la Santé malagasy. Les missions du CNRG sont l’isolement et la caractérisation des souches grippales circulant à Madagascar, l’envoi de souches aux Centre Collaborateur OMS à Londres dans le cadre du “Global Influenza Program” mis en place par l’OMS. La caractérisation antigénique et moléculaire des souches circulant récemment permet ainsi à l’OMS de faire des propositions quant à la composition des vaccins pour les saisons grippales à venir dans les hémisphères Nord et Sud. Dans le cadre de la surveillance de l’émergence d’une grippe pandémique due au virus A/H5N1 et

récemment causée par le virus A/H1N1/2009, le CNRG a été reconnu comme Laboratoire Régional Africain de Référence pour le diagnostic de ces deux virus. Il participe à ce titre au programme de contrôle qualité externe mis en place par l'OMS (EQAP).

Depuis 2007, le CNRG bénéficie de divers soutiens financiers, qui lui ont permis de financer ses activités de routines, ainsi que la mise en place d'un réseau de surveillance de la grippe auparavant limité à la Communauté Urbaine d'Antananarivo (CUA). Ce réseau de surveillance de la grippe est pleinement intégré dans un réseau de surveillance des fièvres intégrant la surveillance de maladies à potentiel épidémique (paludisme, arboviroses, diarrhées fébriles et grippe). Ce réseau a pu être mis en place grâce à un partenariat actif entre l'IPM (Unité de Virologie et d'Epidémiologie) et la Direction des Urgence et de la Lutte contre les Maladies (DULM) de la Vice-Primature chargée de la Santé Publique (VPM-SP). En décembre 2009, la surveillance de la grippe intègre désormais 23 sites sentinelles couvrant 19 districts sanitaires dont 4 se trouvant au niveau de la CUA (figure 1) et desservant jusqu'à présent une population d'environ 975 000 habitants soit environ 5% de la population malagasy totale. L'ensemble des sites effectue une surveillance clinique permettant de définir et mesurer des indicateurs épidémiques. Neuf (9) sites (4 dans la CUA et 5 en province) effectuent en sus, une surveillance biologique consistant à prélever environ 5 patients répondant aux critères de définition d'une infection grippale. Ainsi, la surveillance sentinelle de la Grippe à Madagascar repose sur un système à deux composantes :

- une surveillance clinique (indicateurs épidémiques)
- une surveillance virologique (identification de souches circulantes).

### Surveillance clinique

Cette surveillance est désormais recueillie et compilée journalièrement par l'Unité d'Epidémiologie qui diffuse de façon hebdomadaire les résultats de cette surveillance. Sur Antananarivo, nous relevons aussi les données hebdomadaires de la fréquence des syndromes grippaux parmi les consultants du centre de santé de l'OSTIE Behoririka. Ce centre reçoit par semaine plusieurs milliers de consultants issus de l'agglomération d'Antananarivo, ce qui nous permet d'avoir une indication sur l'activité épidémique des syndromes grippaux. Les seuils épidémiques sont encore à établir pour les différents districts, mais sur Antananarivo nous nous basons jusqu'à présent une fréquence des syndromes grippaux parmi les consultants du centre de santé de l'OSTIE à Antananarivo qui dépasse les 20%.

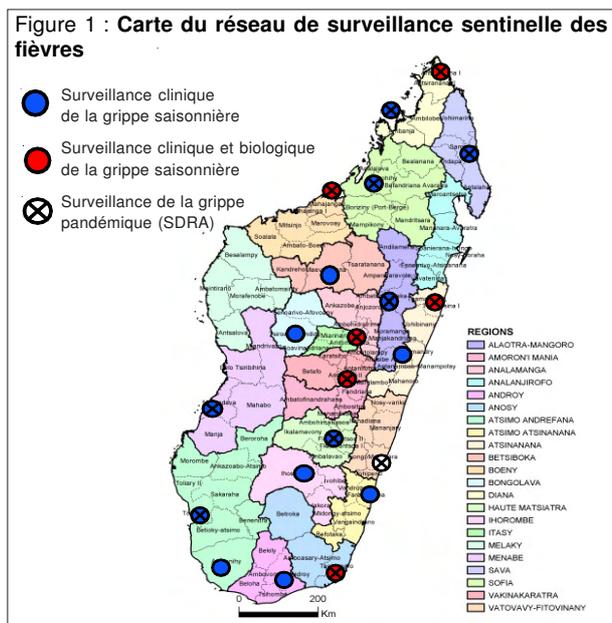
### Surveillance virologique

La surveillance virologique s'appuie sur certains sites du réseau sentinelle de surveillance des fièvres choisies selon différents critères (localisation géographique, densité de population, moyens de communications, équipements disponibles). Des prélèvements oro-pharyngés et/ou naso-pharyngés sont effectués chez les patients consultant un des centres et présentant une fièvre d'apparition brutale évoluant depuis moins de trois jours (72h) associée à une toux et/ou maux de gorge pour la grippe ou autres signes parmi (asthénie, céphalée, catarrhe oculo-nasal et dyspnée) pour les autres virus respiratoires.

A partir de ces prélèvements, le CNRG effectue une tentative d'isolement sur cellules de rein de chien Madin-Darby (MDCK) selon la technique OMS (WHO/CDS/CSR/NCS/2002.5 Rev.1) ou bien, notamment dans le cas d'une urgence ou d'une épidémie, le CNRG peut effectuer un diagnostic moléculaire rapide.

### Surveillance sentinelle de la grippe pandémique

Dans le cadre de la surveillance du virus pandémique A/H1N1/2009 et du virus aviaire A/H5N1, le CNRG, en collaboration avec la VPM-SP et l'Unité d'Epidémiologie, a mis en place un réseau de surveillance des cas de syndromes de détresse respiratoire aigüe (SDRA) au niveau de 15 CHU, CHRR ou CHD2, dont 3 dans la CUA (figure 1, croix).



Le principe de cette surveillance est de quantifier le nombre de SDRA par service et/ou Hôpital, et, pour chaque cas, d'identifier un éventuel facteur de risque d'infection par le virus A/H1N1/2009 et A/H5N1. Toujours dans le cadre de ce réseau, le CNRG a

prépositionné des kits de prélèvement dans l'éventualité d'un cas suspect. Ces kits sont composés d'équipements individuels de protection et de matériels nécessaires au prélèvement et à l'envoi d'échantillons au laboratoire.

### Résultats de la surveillance de la grippe saisonnière

#### • Analyse qualitative et quantitative des prélèvements reçus

Entre le 1<sup>er</sup> janvier 2009 et 11 octobre 2009, nous avons reçu 771 prélèvements suspects issus de la surveillance sentinelle de la grippe saisonnière. Le taux de conformités de ces prélèvements était de 88%. Nous nous approchons de nos objectifs qui sont un taux de conformité  $\geq 90\%$ . Ainsi 675 prélèvements ont été analysés (tableau I). Ces données ne sont pas réellement comparables avec les années précédentes du fait de l'épidémie de A/H1N1/09. Durant cette période épidémique, nous n'avons pu maintenir une surveillance de la grippe saisonnière car toutes nos ressources étaient mises à la disposition de la VPM-SP pour le diagnostic de A/H1N1/09. Durant la période de janvier à octobre 2009, les prélèvements reçus dans le cadre de la surveillance virologique ont été encore très hétérogènes comme on peut l'observer dans le tableau I.

Tableau I : Résultats des sous-types de virus grippaux détectés ou isolés selon leur origine géographique

Villes	B	H1N1	H3N2	NEG	TOTAL
Antananarivo et environs (Centre)	166	16	27	233	442
Toamasina (Côte Est)	14	3	2	28	45
Taolagnaro (Côte Sud)	5	0	4	17	26
Antsirabe (Centre)	33	0	25	87	145
Mahajanga (Côte Ouest)	1	0	0	7	8
Antsiranana (Côte Nord)	3	0	0	6	9
<b>MADAGASCAR</b>	<b>222</b>	<b>19</b>	<b>58</b>	<b>378</b>	<b>675</b>

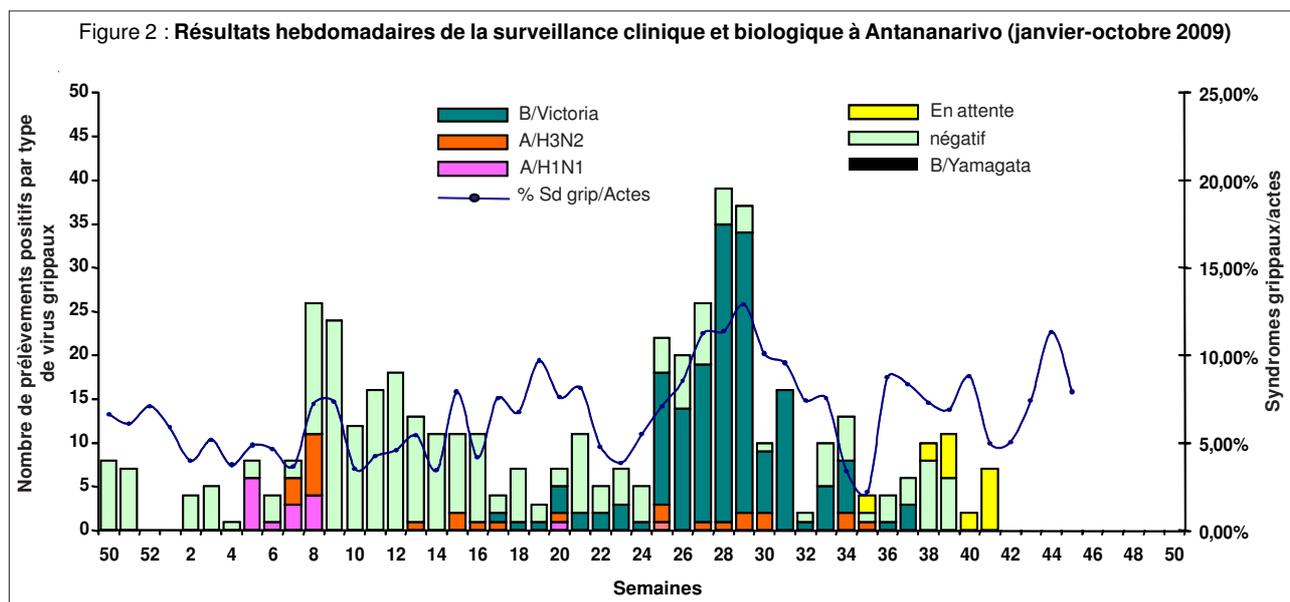
#### • Analyse de l'activité grippale saisonnière à Madagascar en 2009

Le début de l'année 2009 est caractérisé par une co-circulation des virus A/H1N1 et A/H3N2 (figure 2). Cette circulation a pris fin en février 2009 mais des cas sporadiques de A/H3N2 ont été détectés jusqu'au mois d'août. Le deuxième trimestre de l'année 2009 était caractérisé par le début de la circulation du virus grippal B/Victoria avec une forte circulation entre le mois de juin et le mois d'août. Un pic épidémique de 13% était atteint en mois de juillet. Cette saison grippale durant l'hiver austral va se prolonger jusqu'à la semaine 37 (mi-septembre 2009). Cette année, la circulation a débuté et s'est terminée plutôt que ce qui avait été observé les années précédentes. Le virus B a été remplacé par le virus pandémique dès le mois d'octobre, cependant, pour des raisons déjà mentionnées, nous ne sommes pas en mesure de dire si il a existé une co-circulation entre le virus pandémique et les virus saisonniers.

#### • Caractérisation antigénique et moléculaire des souches isolées à Madagascar en 2009

En 2009, nous avons envoyé au NIMR à Londres, 71 souches de virus saisonniers isolés à Madagascar. Les souches H1N1 provenant des prélèvements initiaux n'ont pu être amplifiées par le NIMR. Ceci peut s'expliquer par un problème au niveau de la conservation post-prélèvement. Nous avons en effet pu isoler ces virus uniquement par RT-PCR. Concernant les souches analysées par Londres, il ressort que :

Toutes les souches H3N2 isolées au premier semestre 2009 étaient antigéniquement proches de la souche vaccinale A/Brisbane/10/07. Le séquençage des gènes de l'hémagglutinine (HA) et de la neuraminidase (NA)



de certaines souches isolées ont montré qu'elles sont aussi proches génétiquement de la souche vaccinale et non de la souche A/HK/1985/09 qui a récemment émergé et caractérisé par les mutations au niveau de HA (E62K, N144K, K158N et N189K). Une souche isolée au mois de juin était antigéniquement et génétiquement proche de la souche A/Perth/2009 qui a récemment émergé et fait partie de la recommandation vaccinale pour la saison 2010-2011. Par contre des souches isolées au second semestre 2009 restent encore antigéniquement proche de la souche vaccinale A/Brisbane/10/07.

Les souches du virus H1N1 saisonniers réagissent faiblement contre l'antisérum du virus A/Seychelles/2239/08. L'analyse génétique montre plusieurs substitutions au niveau de HA formant un cluster particulier avec d'autres isolats de Hong-Kong. Ces mutations (V131A, S141N et G185A) pourraient avoir des conséquences sur le plan antigénique. Aussi elles seront suivies de près en cas de réémergence du virus saisonnier A/H1N1.

Les Isolats B/victoria étaient proches antigéniquement des souches vaccinales B/Brisbane/33/08 et B/Brisbane/60/08. Cependant, les titres étaient faibles. L'explication plausible est la présence de substitutions au niveau de la séquence en acide aminé HA1 (I146V et A202V) de nos isolats en comparaison de la séquence de la souche B/Brisbane/60/08.

### **Résultats de la surveillance de la grippe pandémique A/H1N1**

Suite à l'alerte mondiale qui a été donnée en avril 2009 par Le Mexique et les Etats-Unis quant à la détection d'une nouvelle Grippe A/H1N1 (de type porcine), à potentiel pandémique, le CNRG s'est appuyé sur le réseau sentinelle de surveillance des fièvres afin de rapporter et détecter rapidement tout cas suspect. Dès le 15 mai 2009, le CNRG a validé la technique de diagnostique du Virus A/H1N1/2009 par RT-PCR en temps réel. Le 11 juin 2009, l'OMS a déclaré l'état d'alerte maximale à la pandémie (niveau 6). Nous avons alors immédiatement intégré le diagnostic A/H1N1/2009 aux autres tests effectués. Le 12 août 2009, le premier cas de Grippe A/H1N1 pandémique a ainsi été diagnostiqué à partir d'un patient de retour d'Inde. Entre le 12 août et le 9 octobre 2009, des cas sporadiques sont confirmés au CNRG (16 cas). Pour tous il existe une notion de retour de voyage d'une région où le virus pandémique circule. Le vendredi 9 octobre 2009, le laboratoire reçoit 8 prélèvements du Lycée Français d'Antananarivo (LFT) dont 3 sont alors confirmés positifs pour le virus pandémique A/H1. L'infirmier du LFT nous annonce alors une augmentation anormale du

nombre d'élèves présentant des syndromes grippaux. Les jours suivant confirment l'apparition d'un foyer épidémique au LFT. C'est alors le début de l'épidémie de A/H1N1/09 qui va s'étendre rapidement à toute la capitale puis les principales villes de Madagascar.

### **• Analyse qualitative et quantitative des prélèvements reçus**

Du fait des directives qui nous ont été transmises par la VPM-SP dès le début de l'épidémie de grippe A/H1N1, nous avons dû opérer à un diagnostic systématique de tous les cas suspects de grippe. L'activité du CNRG s'est ainsi adaptée aux exigences de la VPM-SP, et son activité entre le mois d'octobre et la fin décembre 2009 s'est résumée plus à du diagnostic biologique que de la surveillance. Le CNRG a ainsi pu apporter un appui important aux autorités sanitaires Malagasy mais a limité en contrepartie son activité de surveillance de la grippe. Le nombre incessant de prélèvements reçus ne permettaient pas au CNRG par manque de ressources en personnel et financière d'assurer ses autres missions. Contrairement à la plupart des pays qui ont arrêté le diagnostic systématique des cas suspects après 100 cas confirmés, le CNRG a dû maintenir les directives ministérielles et maintenir ce diagnostic systématique au-delà des 500 cas confirmés. Ce n'est qu'au point de rupture des réactifs que nous avons été autorisé à ne traiter que les prélèvements des patients à risque ou hospitalisés. Ainsi, aucune donnée sur la surveillance de la grippe saisonnière n'est pour l'heure disponible à partir du mois d'octobre 2009. Sur le plan quantitatif, entre le 12 août 2009 et le 31 décembre 2009, 1981 prélèvements ont été analysés sur plus de 2 700 reçus, soit en 5 mois, près de trois fois le nombre de prélèvements analysés pour la seule année 2008 (719 prélèvements) (tableau II). Le CNRG a pu tout de même traiter près de 80% de la demande grâce à une gestion efficace des réactifs, un effort important de l'ensemble du personnel de l'Unité de Virologie et une aide d'urgence octroyée par l'OMS.

Si près de 78% des cas suspects et 80% des cas confirmés proviennent de la CUA et de ses environs, le réseau sentinelle a joué pleinement son rôle puisque 408 prélèvements (20%) nous ont été adressés par ces derniers alors que moins de 2% des prélèvements ont été reçus hors sites sentinelles. Les sites de surveillance biologique ont tous envoyé des prélèvements (figure 2)

Dans le cas de la grippe pandémique, l'analyse des prélèvements définis comme suspects par les centres sentinelles ont pu être confirmés au CNRG dans 38,2% des cas, ce qui demeure une bonne performance (+8% par rapport aux données de l'année 2008). Ce chiffre est toutefois largement à nuancer en raison de la très large

distribution géographique de cette grippe pandémique et de sa forte prévalence.

L'analyse des cas confirmés de grippe pandémique A/H1N1/09 montre un ratio Homme/Femme de 0,94 proche de celui de la grippe saisonnière.

Tableau 2 : Résultats des analyses du virus de grippe pandémique A/H1N1/09 selon l'origine géographique (du 12 août au 31 décembre 2009)

Villes	District(s)	H1N1 Nég. (P)		Autres Gripes	Total	% positivité
<u>Antananarivo et environs (Centre)</u>	101/102/103 104/105	744	775	15	1534	48,50
<u>Toamasina (Côte Est)</u>	501	25	62	2	89	28,09
<u>Taolagnaro (Côte Sud)</u>	614	31	23	2	56	55,36
<u>Antsirabe (Centre)</u>	110	18	42	10	70	25,71
<u>Mahajanga (Côte Ouest)</u>	401	22	25	0	47	46,81
<u>Antsiranana (Côte Nord)</u>	201	24	28	0	52	46,15
Fianarantsoa	301	19	5	0	24	79,17
Betafo/ Tsiroanomandidy	113 / 119	12	2	0	14	85,71
Maevatanana	412	14	5	0	19	73,68
Moramanga	514	11	7	0	18	61,11
Toliara	601	9	7	0	16	56,25
Morondava	619	0	3	0	3	-
AUTRES : 112/207/208/306/308 313/407/612 / District Inconnu/ Union des Comores (Moroni)	11	28	0	0	39	28,21
<b>MADAGASCAR</b>		<b>940</b>	<b>1012</b>	<b>29</b>	<b>1981</b>	<b>47,45</b>

Soulignés : sites de surveillance biologique

La répartition des cas de syndromes grippaux en fonction de l'âge montre toujours une nette prédominance chez les enfants de moins de 10 ans, avec plus de 45% des cas. Cependant, si l'on ne considère que les cas confirmés de grippe pandémique, la très grande majorité des cas sont des jeunes de moins de 20 ans (78,9%) (tableau III). Ceci s'explique sans doute par le fait que le virus a diffusé dans un premier temps au niveau des établissements scolaires au moment où nous faisons du diagnostic systématique. Nous avons donc eu un biais au niveau des échantillons reçus car ne reflétant pas la répartition en âges de la population Malagasy.

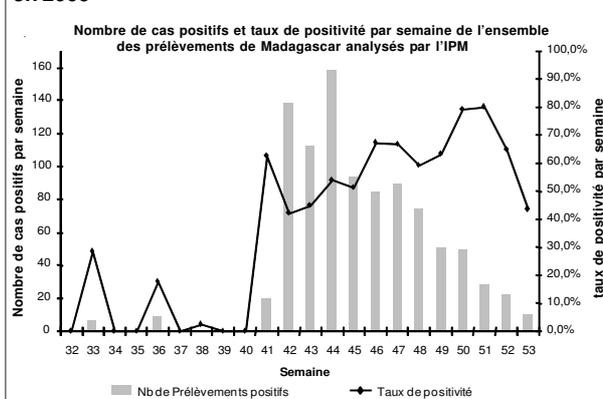
Tableau III : Répartition par tranche d'âge des cas suspects et confirmé de grippe A/H1N1/09 en 2009

Tranche d'âges (ans)	Nb cas Suspects	% (vs. 2008)	Nb cas confirmés	%
0-4	857	30,8 (-7,8)	197	21,0
5-9	440	15,8 (+3,9)	210	22,4
10-14	344	12,4 (+3,7)	193	20,6
15-20	337	12,1 (+1,2)	140	14,9
>20	742	26,7 (-3,2)	180	19,2
Inconnue	59	2,1	17	1,8
<b>TOTAL</b>	<b>2779</b>	<b>100,0</b>	<b>937</b>	<b>100,0</b>

### • Analyse de l'activité grippe pandémique à Madagascar en 2009

L'évolution de la grippe pandémique n'a pas été différente d'une épidémie "classique". En effet, l'épidémie a débuté à partir de la semaine 41 (figure 3). Le virus s'est ensuite propagé largement dans tout le pays pendant une dizaine de semaines (nous estimons que le pic épidémique a été atteint entre les semaines 45 et 47). La décroissance de l'épidémie s'est ensuite clairement amorcée à compter de la semaine 51. Les données présentées ci-dessous (figure 3) exposent par exemple le nombre de cas positifs confirmés par semaine par le CNRG (histogrammes bleus, échelle de gauche) ainsi que le taux de positivité des échantillons analysés par semaine (courbe rose, échelle de droite). En fin d'année 2009 (semaine 53), l'épidémie était clairement sur la décroissance, et les tendances du début d'année 2010 confirment cette impression. Il est fort possible que par la suite, le virus circule à très bas bruit. Nous ne pouvons cependant exclure une éventuelle seconde vague épidémique, notamment au début de l'hiver austral, quand les conditions climatiques seront propices (comme nous l'avons déjà observé ces dernières années pour la grippe saisonnière).

Figure 3 : Activité de la grippe A/H1N1/2009 à Madagascar en 2009



### • Caractéristiques antigéniques et moléculaires des souches isolées à Madagascar en 2009

Au total nous avons envoyé 56 isolats du virus pandémique au NIMR à Londres. 44 isolats ont pu être ré-amplifiés. Ces isolats recouvrent la période de circulation du virus du mois d'août à décembre 2009. Sur le plan antigénique, tous les isolats montrent une certaine homogénéité et ils sont proches antigéniquement de la souche vaccinale A/California/7/2009. Trois virus ont été séquencés pour HA et NA. Deux datant de novembre montrent des substitutions au niveau de HA (A256T) et de NA (V67I et E398K). Ces mutations ne sont cependant pas présentes sur l'isolat le plus récent. La mutation A256T se trouve relativement loin du site

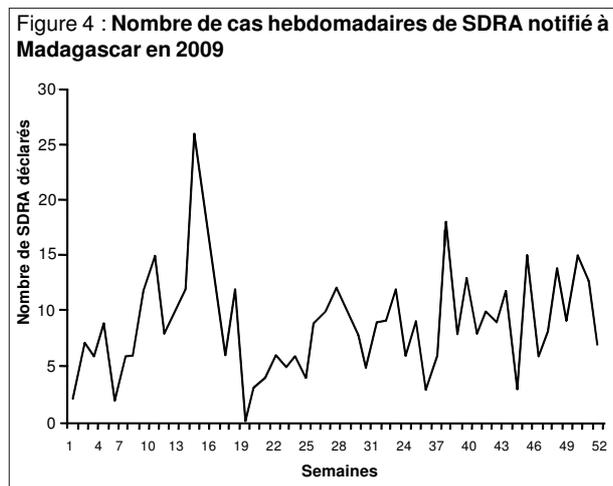
de fixation du récepteur cellulaire. Les trois virus séquencés tombent dans la clade définie par des mutations I321V et S203T au niveau de HA, mais cela ne semble pas affecter l'antigénicité de ces virus. Les séquences des NA des trois isolats malagasy ne portent pas la substitution H275Y associée à la résistance à l'oseltamivir. Neuf isolats ont été testés pour leur résistance aux antiviraux et ils ont tous montré une sensibilité aussi bien à l'oseltamivir qu'au zanamivir.

#### • Mortalité liée au Virus A/H1N1/09

Au cours de la pandémie de grippe, 3 personnes décédées ont été confirmées positives pour A/H1N1 par le CNRG. Les souches de ces patients décédés ont été envoyées à l'Institut Pasteur à Paris pour une analyse génétique plus fine afin de regarder si ces souches seraient plus virulentes. Cependant, pour chacun des cas, une ou plusieurs pathologie sous-jacentes existaient (ancien tuberculeux, asthmatique, éthylo-tabagisme, insuffisance cardiaque, hypertension artérielle...), suggérant que ce soit plutôt une fragilité générale du patient et une somme de pathologies qui aient engendré la mort, plutôt qu'une souche virale plus virulente.

#### Résultats de la surveillance de la grippe aviaire

Suite à la mise en place du réseau de surveillance des cas de syndromes de détresse respiratoire aiguë (SDRA) au niveau de 15 CHU, CHRR et CHD2, les sites ont déclaré 479 cas de SDRA. Aucun cas suspect d'infection par le virus A/H5N1 n'a été notifié. L'observation des déclarations de l'ensemble des sites par semaine montre un pic du nombre de SDRA au cours de la semaine 13 (fin mars 2009) (figure 4). Cette augmentation pourrait correspondre à la circulation de plusieurs virus durant cette période (Grippe, Rhinovirus et VRS) comme le montre l'étude réalisée sur les étiologies des IRA (cf Activité de Recherche – Virus Respiratoires)



#### Conclusion

L'année 2009 a sans nul doute été marquée par l'émergence du premier virus pandémique depuis plus de 40 ans. Comme de nombreux pays de part le monde, Madagascar n'a pas été épargnée par cette épidémie. Heureusement nous ne déplorons que peu de décès (3). Cette épidémie a tout de même montré l'importance et l'efficacité du réseau sentinelle de surveillance des fièvres sur lequel s'appuie la surveillance de la grippe. Ce réseau a ainsi permis de détecter rapidement la circulation au niveau communautaire du virus A/H1N1/2009 à la suite du foyer épidémique du Lycée Français d'Antananarivo. De même, le réseau a permis de suivre la propagation de l'épidémie sur l'ensemble du territoire Malagasy. Le CNRG a donc joué un rôle important dans le système de suivi et de mitigation de l'épidémie mis en œuvre par les équipes de riposte de la VPM-SP. Cette épidémie a cependant révélé les limites du CNRG quant à ses capacités intrinsèques de diagnostic et son manque d'écoute de la part de ses partenaires institutionnels malgré les recommandations émises en tant qu'expert reconnu par l'OMS.

L'année 2009 a aussi été une année riche pour le CNRG aussi bien sur le plan national qu'international. En effet, le CNRG a co-financé et co-organisé le premier colloque national des CNR et LNR avec une thématique majeure autour de la grippe. Plus de 300 personnes ont pu assister à cette journée. Le CNRG a fait parti du comité scientifique du premier symposium international sur la grippe organisé en décembre 2009 à Johannesburg (Afrique du Sud). Au cours de cette conférence il a pu aussi présenter les résultats de l'étude rétrospective sur les virus respiratoires circulant à Antananarivo. Enfin, le CNRG et l'IPM ont signé un "Consortium Agreement" de 4 ans avec le CDC d'Atlanta qui leur permettront de continuer les activités entreprises en matière de surveillance de la grippe à Madagascar.

Cette année a vu le réseau de surveillance de la grippe s'agrandir. Ce réseau compte désormais 23 sites sentinelles repartis sur près de l'ensemble du territoire Malagasy ainsi que 15 centres hospitaliers.

En 2010, outre le maintien de ses activités de surveillance et l'extension des deux réseaux sentinelles, le CNRG continuera son investigation biologique sur les étiologies des IRA. D'autres études sont en cours tels la détection des virus grippaux de type A chez les porcs domestiques de Madagascar et le développement de la technique pour le transport à température ambiante et la détection des virus grippaux à partir de buvard et d'écouvillons secs. Ceci permettra de répondre aux réalités de terrain de Madagascar et de livrer à l'ensemble des formations sanitaires un kit de prélèvement à

température ambiante. Le CNRG financera et participera à deux formations. La première concernant les équipes de réponse rapide et la seconde, en collaboration avec l'Unité d'Epidémiologie sur un atelier de travail sur l'investigation d'épidémie.

## 5- LABORATOIRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE POUR LES MYCOBACTÉRIES (CNRM)

### 1. Activités de diagnostic et de supervision du CNRM

IPM : *H Ramarokoto, P Ravololonandriana, V Rasolofo Razanamparany*

IHS : *A Rakotoarisonina, H Ramarokoto*

Le Centre National de Référence des Mycobactéries (CNRM) comprend le Laboratoire National de Référence (LNR) à l'Institut d'Hygiène Sociale (IHS) et le Laboratoire des Mycobactéries de l'IPM.

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

Le réseau de laboratoires du Programme National Tuberculose (PNT) est actuellement constitué par le Centre National de Référence des Mycobactéries, 16 laboratoires régionaux de référence (LRR) et 222 laboratoires périphériques. Le nombre de malades suspects examinés dans tous les laboratoires du réseau a été de 15 618 en 2009 et le taux de dépistage de 25,3%, soit environ 1 malade sur 4.

Ce taux de dépistage reste globalement stable entre 20% comme au cours des années précédentes (25,4% en 2008; 21,5% en 2007 au LNR), constituant ainsi un critère de performance.

La formation et le recyclage des techniciens de laboratoire est assumée par les équipes du LNR et des LRR. En 2009, 58 techniciens de laboratoire ont été formés. Par ailleurs, le LNR et LRR effectuent le contrôle de qualité de tous les laboratoires du réseau. Au total, 43 laboratoires ont été contrôlés dans tout Madagascar, soit 19,9%. Les résultats du contrôle de qualité ont montré un taux de concordance de 96,2%.

#### • Laboratoire des Mycobactéries de l'IPM

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

#### *Microscopie*

En 2009, le laboratoire a reçu et analysé 2 406 échantillons, dont 1 238 (51,5%) pour les patients du CBC,

435 (18,1%) pour les patients du PNT et 733 (30,5%) pour les programmes de recherche. Tous les échantillons ont été analysés par la microscopie après coloration à l'auramine.

#### *Culture et identifications*

La culture est demandée pour les cas de tuberculose de diagnostic difficile (tuberculose pulmonaire à microscopie négative, tuberculose de l'enfant, tuberculose extrapulmonaire), les enquêtes et les projets de recherche. Sur 1 524 cultures faites sur milieu de Löwenstein-Jensen (23,3% pour le CBC; 28,5% pour le PNT et 48,1% pour la recherche), 354 (23,22%) étaient positives.

Les souches de mycobactéries sont identifiées par les tests biochimiques standard (réaction de la catalase à 22° et 68°C, réduction des nitrates, recherche de l'uréase). En 2009, 478 tests d'identification ont été effectués et toutes les souches ont été identifiées comme *M. tuberculosis*.

#### *Antibiogrammes*

Les antibiogrammes sont rarement demandés pour les nouveaux cas, mais essentiellement pour les cas déjà traités, pour les enquêtes et la recherche. Ils ont un intérêt dans la surveillance épidémiologique de la résistance aux antituberculeux et de manière plus spécifique de la multirésistance à au moins l'isoniazide et la rifampicine (MDR). La sensibilité aux principaux antituberculeux (streptomycine 4µg/ml, isoniazide 0,2µg/ml, rifampicine 40µg/ml, éthambutol 2µg/ml) est testée selon la méthode indirecte des proportions sur milieu de Löwenstein-Jensen.

Sur 136 tests de sensibilité réalisés, 95 souches étaient sensibles, 11 résistantes dont 4 MDR et 30 sont en attente de résultats.

#### • Contrôle de qualité

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

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

Depuis octobre 2008, le laboratoire des mycobactéries participe au contrôle de qualité externe des antibiogrammes des laboratoires supranationaux de référence, organisé par l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers (F Portaels, A van Deun).

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

IPP : H Ramarokoto, P Ravololonandriana, V Rasolofo PNT

Fondation Mérieux : J Hoffmann

Même si les taux de résistance et de MDR restent à un niveau relativement faible à Madagascar, il paraît utile de détecter les cas de MDR le plus rapidement possible pour éviter leur transmission dans la population. La mise en place et l'évaluation du test moléculaire GenoType® MTBDR<sub>plus</sub> (HAIN, Lifescience) pour la détection rapide des mutations responsables de la résistance de *M. tuberculosis* à la rifampicine et à l'isoniazide chez les sujets en échec de traitement ou en rechute TB, sont en cours au laboratoire de l'IPM. Ce test peut être réalisé à partir de l'ADN extrait de souches mais également à partir des crachats.

### 6- LABORATOIRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE POUR LA RAGE

SF Andriamandimby, JM Reynes, JM Héraud, GM Razafitrimo, JT Rafisandratantsoa, 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 cerveaux d'animaux suspects de rage par Immunofluorescence Indirecte (IFI). Pour les cas trouvés négatifs par cette technique, une tentative d'isolement du virus rabique sur une culture de Neuroblastome murin est effectuée. Cette technique est plus rapide comparée à l'inoculation intracérébrale de souris (2 jours *versus* 21 jours). Une technique moléculaire est utilisée pour les prélèvements de peau humaine suspects de rage en utilisant des amorces ciblant une partie du gène de la polymérase du virus rabique. Cette surveillance passive est supportée financièrement par l'IPM. Il n'existe pas encore à Madagascar un plan national de lutte contre la rage.

En 2009, le laboratoire a reçu 63 prélèvements d'animaux (49 chiens, 9 chats, 2 bovins, 1 porc, 1 lapin et 1 fosa) et 6 prélèvements humains (figure 1). 32 prélèvements ont pu être confirmés au laboratoire soit un taux de positivité de 46,4% (tableau I). Les résultats ont été ininterprétables pour 6 prélèvements dont 1 prélèvement humain.

Le volume global de prélèvements reçus en 2009 a diminué par rapport à 2008 mais on note une très nette augmentation du nombre de cas positifs puisque nous sommes passés de 12 cas confirmés en 2008 à 32 cas en

2009 (figure 2). Sur les 32 cas confirmés, les chiens représentent plus de 80% avec un taux de positivité pour cette espèce égal à 53% (26/49). Il est à noter une recrudescence de la rage canine à Moramanga au mois de décembre avec 9 cas confirmés (28% du nombre total de cas sur tout Madagascar). Le nombre de cas humains suspects a aussi augmenté (6 contre 3 en 2008). Un des prélèvements n'a pu être testé car déjà formolé. Au total 3 cas humains de rage ont été diagnostiqués au LNR en 2009.

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

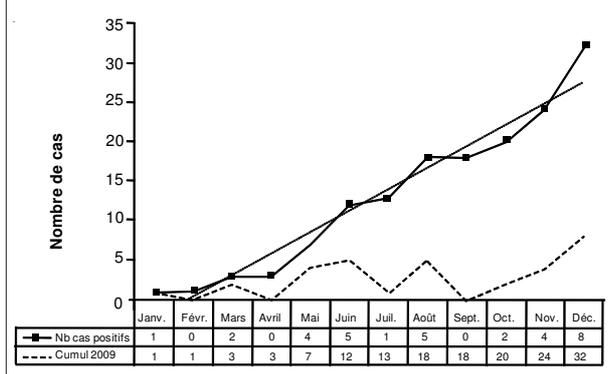
Figure 1 : Distribution des cas suspects de rage à Madagascar en 2009



Tableau I : Origine par District des cas confirmés de rage à Madagascar en 2009

Espèces	District	Commune	Positif
<b>HUMAIN</b>	501	Toamasina I	1
	502	Mangabe	1
	502	Toamasina II	1
<b>BOVIN</b>	209	Vohémar	1
	412	Mahatsinjo	1
<b>CHAT</b>	313	Ranohira	1
<b>CHIEN</b>	101	CUA	6
	102	Andoharanofotsy	1
	102	Andranonahoatra	1
	102	Ankaraobato	1
	103	Alasora	1
	112	Antambolo	1
	114	Antsampanimahazo	1
	313	Ranohira	1
	317	Mananjary	1
	503	Ambatosoratra	1
	514	Antanandava	1
514	Moramanga	9	
614	Taolagnaro	1	
<b>Total pour Madagascar</b>			<b>32</b>

Figure 2 : Evolution du nombre de cas de rage confirmé au LNR (Madagascar, 2009)



## 7- CENTRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE POUR LES ARBOVIRUS ET LES VIRUS RESPONSABLES DES FIÈVRES HÉMORRAGIQUES

SF Andriamandimby, JM Héraud, R Razafindratsimandresy, JP Ravalohery, JT Rafisandratantsoa, J Razainirina, NS Andriamamonjy

Suite à l'épidémie de dengue (sérotypage 1) et de fièvre Chikungunya en 2006 dans l'Est de Madagascar (Toamasina), nous avons initié la même année dans la capitale provinciale, en collaboration avec les autorités sanitaires locales, une surveillance sentinelle clinique et biologique des arboviroses. Depuis 2007, grâce à différents financements (Banque Mondiale dans le cadre du projet Cresan-2, Ministère de la Santé Français, Département Américain de la Santé humaine (DHHS)), le LNR en collaboration avec l'Unité d'épidémiologie et les services de la Direction des Urgences et de la Lutte contre les Maladies (DULM) a participé à la mise en place du réseau sentinelle de surveillance des fièvres. Cette surveillance porte non seulement sur les arboviroses (syndrome dengue-like) mais plus généralement sur les syndromes fébriles dont le paludisme et la grippe. Ce projet permet un suivi en temps réel de l'évolution de ces syndromes dans 23 sites sentinelles (cf tableau I CNR Grippe). Au sein de ce réseau, 4 sites, Toamasina, Mahajanga, Antsiranana et Taolagnaro sont aussi des sites sentinelles biologiques et envoient de manière hebdomadaire vers l'IPM des prélèvements provenant des cas suspects.

Cette surveillance sentinelle a pour objectifs de disposer d'un système d'alerte précoce de situation épidémique, d'attester la réalité d'une épidémie et d'en confirmer l'origine afin d'assurer une riposte rapide.

Seuls les résultats de la surveillance biologique des arboviroses seront rapportés ci-dessous (les résultats de la surveillance sentinelle clinique sont présentés dans les travaux de l'Unité d'Épidémiologie qui gère ce volet avec la DULM). Cette surveillance biologique a pour objectifs spécifiques de confirmer la présence d'un arbo-

virus lors d'épidémie de syndrome dengue-like ou hémorragique révélée par la surveillance sentinelle clinique ou par d'autres alertes, et de confirmer ou non l'endémicité de certains arbovirus épidémiques (virus de la fièvre Chikungunya et virus de la Dengue).

### • Organisation de la surveillance

#### *Recueil des prélèvements*

Les agents de santé des 4 centres sentinelles cliniques et biologiques sont chargés de prélever au plus 5 ml de sang par semaine chez 5 patients suspects d'arbovirose. Il s'agit de cas respectant des critères d'inclusion (température axillaire > 37,5°C, et 2 des signes parmi les suivants : céphalées, myalgies, arthralgie, éruption cutanée, douleurs rétro-orbitaires, manifestations hémorragiques) et d'exclusion (absence de diarrhée, de signes respiratoires et d'infection pas *Plasmodium* sp.). Une fiche de laboratoire documentant ces critères est complétée pour chaque patient prélevé. Les patients sont convoqués 7 à 21 jours plus tard pour effectuer un deuxième prélèvement. Les prélèvements de sang sont conditionnés par le centre avec les équipements et les consommables fournis par le projet (centrifugeuse, pipettes, cryotubes, cônes, feutre, alcool, gants, tubes secs, aiguilles, porte-tube, boîte à déchets). Le sérum d'un patient après centrifugation du sang est aliquoté dans 2 cryotubes identifiés qui sont congelés dans un cryoconservateur d'azote à sec. Une fois par semaine, les cryoconservateurs contenant les prélèvements et les fiches de laboratoire sont acheminés à l'IPM par voie aérienne pour les centres d'Antsiranana et de Taolagnaro ou par voie terrestre pour ceux de Mahajanga et de Toamasina. Dans la même journée ou le lendemain, le cryoconservateur est renvoyé par le même système à chaque centre après avoir été rechargé en azote liquide. Le laboratoire peut recevoir également, hors centres sentinelles biologiques, des prélèvements de patients effectués dans le cadre d'investigation de cas ou d'épidémie.

#### *Analyses de laboratoire*

##### - Diagnostic direct

La mise en évidence directe des virus se fait sur tous les prélèvements de patient dont la maladie évolue depuis moins de 6 jours.

Des tentatives d'isolement sont effectuées sur cellules AP61 ou Vero E6 (pour des cas très spécifiques, l'inoculation par voie cérébrale et/ou intra-péritonéale à des souriceaux nouveau-nés peut être utilisée). L'identification se fait par immunofluorescence indirecte (IFI) à l'aide d'anticorps monoclonaux ou d'ascites hyper-immunes sur les cellules 8 jours après leur inoculation (et éventuellement sur un squash de cerveau de souriceau

devenu malade et sacrifié). Le protocole s'inspire de celui décrit par Digoutte et al. *Res Virol* 1992; **143** : 417-422) et utilise en routine des anticorps ou des ascites hyper-immunes de souris permettant de détecter 13 arbovirus (les 4 virus de la dengue (DENV), le virus Chikungunya (CHIKV), le virus West-Nile, le virus Babanki, le virus Bunyamwera, le virus Ngari, le virus Wesselsbron, le virus de la Fièvre Jaune, le virus Ilesha, le virus de la Fièvre de la Vallée du Rift). Ces ascites et anticorps ont été fournis par l'Institut Pasteur à Dakar et le CDC (Fort Collins, CO, USA). Ces arbovirus ont été sélectionnés car pathogènes pour l'homme et parce qu'ils ont déjà été isolés, pour la plupart, à Madagascar. Un prélèvement qui donnerait un effet cytopathogène (ECP) après inoculation sur cellules et non identifiable par nos techniques, serait expédié à un centre collaborateur OMS pour identification.

La recherche de génome viral (ARN) de DENV est effectuée par RT-PCR suivi d'une PCR nichée ou semi-nichée selon les techniques développées par Schuffenecker I et al. *PLoS Med* 2006; **3** : e263 et Chien LJ et al. *J Clin Microbiol* 2006; **44** : 1295-1304. Actuellement la mise en place d'une technique en temps réel, plus rapide et plus performant, se fait progressivement. Pour CHIKV et RVFV cette recherche se fait désormais par RT-PCR en temps réel selon la technique développée concernant le CHIKV par Laurent P et al. *Clin Chem* 2007; **53** : 1408-1414).

#### - Diagnostic indirect

+ Ig totales dirigées contre les flavivirus DENV-1, DENV-2, DENV-3 et virus West-Nile, et les alphavirus CHIKV et Babanki par la technique de l'inhibition de l'hémagglutination ou IHA (méthode de Clarke et Casals adaptée aux microtechniques. *Am J Trop Med Hygiène* 1958; **7** : 561-573).

+ IgM dirigées contre les virus DENV, CHIKV, et West-Nile (technique ELISA modifiée d'après Lhuillier et Sarthou. *Ann Virol* 1983; **134 E** : 349-359).

La technique IgM ELISA est appliquée à tous les prélèvements quelle que soit la durée d'évolution de la maladie alors que la technique IHA n'est utilisée que pour les paires de sérums d'un même patient.

Pour répondre à un de nos objectifs de la surveillance, nous disposons également de techniques de diagnostic direct (RT-PCR nichée conventionnelle ou temps réel) et indirect (IgM et IgG ELISA) d'infection par des virus responsables de fièvres hémorragiques comme les virus Ebola, Marburg, Lassa, Fièvre de la Vallée du Rift, Fièvre Jaune et Fièvre Hémorragique de Crimée-Congo. Ces techniques ne sont pas pratiquées en routine mais pour

les cas graves suspects de fièvre hémorragique. Ces réactifs ont été fournis par le Centre Collaborateur OMS pour les arbovirus de l'Institut Pasteur à Dakar (Sénégal) et par le CDC. Special Pathogen Branch à Atlanta (USA).

#### *Elevage*

Le LNR dispose d'un élevage de souris de type OF1 lui permettant la production de certains antigènes et ascites hyperimmunes nécessaires pour certaines analyses.

#### *Diffusion des résultats*

Des éditions partielles puis totales des résultats individuels des analyses des prélèvements des patients sont envoyées aux centres sentinelles une fois par semaine avec le cryoconservateur. Les médecins se chargent de les donner aux patients. Le centre sentinelle reçoit chaque semaine un bilan récapitulatif des patients prélevés dont les prélèvements viennent d'être analysés ou sont en cours d'analyse, avec les conclusions du laboratoire pour chaque patient quant à la présence ou non d'une infection par un arbovirus. Enfin il reçoit un bilan récapitulatif depuis le début de la surveillance qui fait état du dénombrement hebdomadaire des cas prélevés par centre et des conclusions du laboratoire pour ces cas. Ce bilan de la surveillance biologique est également envoyé par email aux partenaires de la surveillance (DULM et OMS).

#### • Résultats

##### *Surveillance biologique sentinelle*

Pour l'année 2009, le LNR a reçu 221 prélèvements dont 98 ont été prélevés une seconde fois. Comparez aux années précédente, ce nombre est en légère augmentation mais reste encore très en dessous du nombre maximum attendu. De plus, la répartition des prélèvements par sites est très inégale puisque 86% proviennent du site sentinelle de Toamasina qui est le seul site à envoyer une moyenne de 5 prélèvements par semaine. D'une manière générale, les critères d'exclusion et d'inclusion ont été respectés. Il y a eu plus de 90% prélèvements conformes. Le point le plus délicat reste l'obtention du 2<sup>ème</sup> prélèvement : performance moyenne de 44,34% pour une performance attendue de 80% (tableau I). Nous constatons aussi une chute du nombre de prélèvement provenant du site de Taolagnaro qui n'a envoyé que deux cas suspect. Pourtant c'est grâce à ce site que nous avons pu mettre en évidence la circulation du virus de la FVR en 2008.

La circulation de CHIKV a été mise en évidence dans le seul site de Toamasina de façon sporadique avec cependant un pic entre mai et juin 2009 (tableau I). Les preuves sérologiques ont été mises en évidence surtout

entre les mois de juin et juillet dans cette même ville. Le manque de seconds prélèvements fait que le nombre des statuts indéterminés (60,2%) est encore important. Il s'agit de cas où nous ne pouvons exclure l'absence d'infection par les virus testés.

### Investigation d'épidémies

Dans le cadre du suivi de l'épidémie de Fièvre de la Vallée de Rift qui a touché Madagascar en 2008, nous avons reçu 19 prélèvements suspects entre les mois de janvier et avril 2009. Nous avons pu isoler RVFV dans 4 prélèvements et détecté des IgM anti-RVFV dans 7 sérums.

Suite à une alerte de syndrome dengue-like à Mananjary, nous avons reçu 3 prélèvements du SSD de Mananjary. Malheureusement, en l'absence de 2<sup>ème</sup> prélèvement, nous n'avons pas pu infirmer ou confirmer une infection par un arbovirus.

Tableau 1 : Nombre des sérums reçus des 4 centres sentinelles et nombre de virus isolés, janvier à décembre 2009

Centre sentinelle	Prélèvements précoces	Prélèvements tardifs (%)	Virus détectés (Sérologies positives) <sup>1</sup>	Statut indéterminé (%)
Toamasina	190	87 (45,8)	10 CHIKV (7 CHIK)	113 (59,5)
Antsiranana	12	4 (33,3)	0	8 (66,6)
Mahajanga	17	6 (35,3)	0 (1 FLAVI)	11 (64,7)
Taolagnaro	2	1 (50,0)	0	1 (50,0)
<b>Total Patients</b>	<b>221</b>	<b>98 (44,3)</b>	<b>10 CHIKV (7 CHIK, 1 FLAVI)</b>	<b>133 (60,2)</b>

<sup>1</sup>CHIKV = Infection aiguë par le Virus Chikungunya (présence d'ARN viral avec ou sans présence d'IgM dirigée contre CHIKV)

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

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

### • Conclusion

Cette surveillance biologique a permis de rechercher en temps réel une étiologie arbovirale à certains syndromes fébriles. Cette surveillance a permis cette saison de suspecter et d'orienter certains syndromes fébriles dans certaines localités vers le diagnostic du Chikungunya, qui comme l'année dernière semble circuler entre les mois d'avril et juillet. Nous avons détecté de manière très sporadique en début d'année 2009 du RVFV, mais depuis le mois d'avril, aucun cas n'a été détecté.

Les activités de surveillance du LNR se sont améliorées avec l'acquisition de nouvelles techniques de diagnostic (RT-PCR en temps réel pour détecter DENV, CHIKV et RVFV). La mise en fonction du laboratoire NSB3 permet de manipuler les virus de groupe à risque 3 et d'envisager des programmes de recherche en toute sécurité pour l'environnement.

Malgré leur coût élevé, qui a été supporté en partie en 2009 par l'Institut Pasteur de Madagascar, la poursuite sans interruption de ces activités de surveillance de laboratoire est indispensable. Cependant, en l'absence de financements adéquats, une réorganisation s'impose et le LNR mettra en place la technique de prélèvement sur buvard pour le diagnostic moléculaire et sérologique en 2010 afin de réduire les coûts du transport.

## 8- LABORATOIRE CENTRAL DE LA BILHARZIOSE (LCB)

VE Ravaoalimalala, P Ravoniarimbina, AS Rafalimanantsoa, J Rahamefy

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

Depuis l'année 2008, Madagascar fait partie des pays qui ont été choisis pour l'application de l'approche intégrée des maladies tropicales négligées (MTN) par l'Organisation Mondiale de la Santé et ses principaux partenaires. Son objectif est de réduire la morbidité due à ces MTN et de faire reculer la pauvreté par la distribution de masse de médicaments (DMM) dans la population des enfants d'âge scolaire de 5 à 15ans et cela au moins pendant trois années successives. Le Laboratoire Central Bilharziose est chargé d'en assurer le suivi et l'évaluation par des enquêtes épidémiologiques.

Les activités réalisées par le LCB au cours de l'année 2009 ont été des enquêtes épidémiologiques pour le suivi et évaluation de la DMM, le traitement des cas de schistosomoses, de taeniasis et d'hyménolépiases dépistés lors des enquêtes menées en 2008 et des enquêtes malacologiques.

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

Ces enquêtes ont permis d'évaluer la situation de la bilharziose et des géohelminthes. Elles ont été menées dans quatre districts dont deux sont endémiques à la schistosomose à *Schistosoma mansoni* : Anosibe an'Ala et Manandriana, un endémique à la schistosomose à *Schistosoma haematobium* : Miandrivazo et un dernier où les deux espèces de schistosomes sévissent : Sakaraha.

L'enquête épidémiologique menée à Anosibe an'Ala était une évaluation de la situation de la schistosomose un an après la DMM. Celle menée dans les trois autres districts a reposé sur une enquête pour estimer des données de base initiale avant traitement afin de mesurer l'impact lors des suivis périodiques de la DMM prévus pour la fin de l'année 2009 et pour l'année 2010.

### **Enquête épidémiologique à Anosibe An'Ala**

L'enquête parasitologique a eu lieu dans 7 écoles primaires publiques et une école privée concernées par la première enquête en 2008.

891 prélèvements de selles ont été effectués. 408 (46%) élèves étaient porteurs d'œufs de *Schistosoma mansoni*, 196 (22%) d'*Ascaris lumbricoides*, 714 (80%) de *Trichocephales*, 3 de *Taenia* spp, 5 d'*Hymenolepis*, 1 d'*Anguillules* et 3 de *Fasciola gigantica*. Le polyparasitisme était assez important, il a été retrouvé 2 ou 3 parasites en moyenne chez un même enfant parasité.

La prévalence globale de la schistosomose intestinale a légèrement diminué, elle est passée de 53,47% en 2008 à 46% en 2009. L'intensité d'infection moyenne chez les cas positifs est passée de 534 œufs par gramme de selles (OPG) à 192 OPG.

De fortes prévalences, supérieures à 50%, ont été retrouvées dans trois écoles. En 2008, ces fortes prévalences avaient concernées 5 écoles. Dans ces foyers hyperendémiques traités, la diminution de la prévalence a été de 25,45% et celle de la charge parasitaire de 65%.

### **Enquête épidémiologique dans les trois autres districts**

- A Manandriana, les enquêtes parasitologiques ont été menées dans 9 écoles primaires publiques : 1 127 prélèvements de selles ont été effectués, 571 (50,6%) personnes étaient porteuses d'œufs de *S. mansoni*, 413 (72%) d'*A. lumbricoides*, 36 (6%) de *Trichocephales*, 9 d'*Ankylostomes*, 25 de *Taenia* spp, 3 d'*Hymenolepis*, et d'*Anguillules*. Le polyparasitisme était fréquent.

De fortes prévalences de schistosomose intestinale, supérieures à 50%, ont été retrouvées dans 3 écoles. Seule une école était hypoendémique, les autres étaient mésoendémiques.

La moyenne de la charge parasitaire chez les cas positifs pour la schistosomose intestinale était de 455 OPG.

- A Sakaraha, les enquêtes parasitologiques ont été menées dans 5 écoles primaires publiques.

349 prélèvements de selles et 348 préparations d'urines ont été effectués, 319 (91%) personnes étaient porteuses d'œufs de *S. mansoni*, 8 (2%) infestées par des *A. lumbricoides*, 21 (6%) par des *Trichocephales*, (le polyparasitisme a souvent été observé), 22 (6%) par *S. haematobium*.

De fortes prévalences de la schistosomose intestinale, supérieures à 50%, ont été trouvées dans toutes les écoles visitées. La schistosomose uro-génitale existe également mais elle est encore limitée, les prévalences sont inférieures à 20%.

L'intensité de l'infestation des deux formes de schistosomoses était élevée. En effet, la moyenne de la charge parasitaire chez les cas positifs pour la schistosomose intestinale était de 825 OPG et elle était de 72 œufs pour 10 ml d'urines chez les cas positifs pour la schistosomose uro-génitale.

- A Miandrivazo, les enquêtes parasitologiques ont été menées dans 8 écoles primaires publiques.

780 prélèvements de selles et 782 préparations d'urines ont été effectués.

A l'examen macroscopique, 86 (11%) des urines étaient hématuriques ; 609 (78%) personnes étaient porteuses d'œufs de *S. haematobium*, 5 (0,6%) de *S. mansoni*, 8 (1%) d'*A. lumbricoides*, 37 (5%) de *Trichocephales*, 4 de *Taenia* spp, 1 d'*Hymenolepis*, 11 de *Fasciola gigantica*. Le polyparasitisme a aussi été retrouvé dans cette zone.

De fortes prévalences de schistosomose uro-génitale, supérieures à 50%, ont été trouvées dans toutes les écoles visitées. La schistosomose intestinale a été dépistée mais à un niveau assez faible. Elle pourrait n'être probablement qu'importée, la plupart des habitants de ces villages sont originaires de zones d'endémie à *S. mansoni* et y font souvent des déplacements.

L'intensité d'infestation était aussi élevée pour les deux formes de schistosomoses. La moyenne arithmétique des intensités d'infection pour *S. mansoni* était de 432 OPG et celle de *S. haematobium* de 203 œufs pour 10 ml d'urines.

### **• Traitement des cas positifs**

En 2008, des enquêtes épidémiologiques pour évaluer la situation de la bilharziose avaient été menées dans les districts d'Ambatondrazaka, Amparafaravola - Région Alaotra Mangoro et dans le village de Belagera, district de Tsiroanomandidy - Région Bongolava. Le traitement des cas dépistés de schistosomoses, de taeniasis et d'hyménoélépiase a pu être effectué en 2009.

Au total, 388 personnes ont été traitées par du praziquantel à la dose de 40mg/kg de poids corporel. La même dose a été administrée aux porteurs de taeniasis et hyménoélépiase dans les zones fortement endémiques pour la bilharziose.

Dix neuf personnes, soit 9% des sujets traités ont présenté des réactions secondaires modérées, à type de prurit, urticaires, céphalées, toux, dyspnée, fièvre avec courbatures. Ces réactions secondaires ont été traitées par des antihistaminiques.

Au cours de ces missions de traitement, une sensibilisation sur la prévention de bilharziose et des géohelminthes a également été réalisée.

#### • Enquêtes malacologiques

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

A Ambatondrazaka, le *Biomphalaria pfeifferi* n'a pas été retrouvé. Les autres espèces de mollusques récoltées sont *Lymnaea natalensis hovarum*, *Bulinus forskalii*, *Pila cecilei*, *Melanoides tuberculata*, *Cleopatra madagascariensis*.

A Ampefy, 723 *Biomphalaria pfeifferi* ont été collectés, les autres espèces rencontrées étaient : *Pila cecilei*, *Bulinus liratus*, *Lymnaea natalensis hovarum*, *Physa acuta*, *Anisus crassilabrum*, *Melanoides tuberculata*.

33,46% (171) des *B. pfeifferi* testés (511) étaient positifs au test d'émission des furcocercaires de *S. mansoni* et 7,83% (40) ont émis d'autres types de cercaires.

Pour la production de schistosomes, une infestation de six souris blanches, hôtes définitives expérimentales, par la méthode de barbotage, a été réalisée avec ces furcocercaires. Le nombre de cercaires pour l'infestation était de 100 ou 125 cercaires par souris. Quatre semaines après l'infestation, l'examen des selles de ces hôtes définitives a montré la présence d'œufs de *Schistosoma mansoni*.

A la onzième semaine, la dissection des trois souris survivantes a permis de récolter une cinquantaine de vers adultes des deux sexes.

#### • Conclusion

Des villages hyperendémiques en *Schistosoma mansoni* et/ou en *Schistosoma haematobium* ont été confirmés. Les fortes charges parasitaires pour les deux espèces de Schistosomes sont en faveur d'une évolution vers des complications graves de la bilharziose. Ces résultats confirment l'intérêt de la DMM pour éviter l'évolution vers des formes graves dans la population des enfants d'âge scolaire.

# Autres activités de santé publique

## 1- ACTIVITÉS DE SANTÉ PUBLIQUE DE L'UNITÉ DE RECHERCHE SUR LE PALUDISME

### • Surveillance de la chimiosensibilité/résistance de *Plasmodium* à Madagascar

T Andriantsoa, R Raheinjafy, M Jahevitra, E Ravaoarisoa, V Andrianaranjaka, S Rabearisoa, MA Rason, L Randrianasolo, R Ratsimbazafy, A Randriamanantena

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

Ce projet a permis d’assurer les collectes d’isolats et de réaliser des tests *in vivo*. Des dépistages passifs et/ou actifs du paludisme ont été effectués à Moramanga, à Sainte Marie et à Maevatanana. Malgré la situation politique, des sites sentinelles ont continué à envoyer des isolats, et 101 tests de chimiosensibilité *in vitro* ont pu être effectués. Les points importants à retenir sont :

i- l’efficacité thérapeutique de la combinaison fixe artésunate + amodiaquine (73/73) dans le traitement des accès palustres simples à Maevatanana – sur le versant ouest de Madagascar,

ii- la persistance du paludisme dans les zones chaude vers les régions côtières comme Miandrivazo ou Maevatanana

iii- la baisse de la prévalence du paludisme dans les marges est des hautes terres notamment à Moramanga ; et la baisse de l’incidence du paludisme même sur la côte est quand les moustiquaires imprégnées d’insecticides sont distribuées (ce qui nécessite par la suite des missions plus longues pour pouvoir enrôler des malades),

iv- le retour de la transmission du paludisme à Sainte Marie après deux années d’accalmie.

### • Assurance qualité

#### Contrôle qualité des tests de diagnostic rapide du paludisme à Madagascar

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

L’objectif est d’assurer la qualité du test de diagnostic rapide du paludisme ou TDR (CareStart® (Access Bio,

New Jersey, USA) utilisés dans les centres sentinelles de surveillance des fièvres à Madagascar.

Les tests TDR ont été réalisés par le personnel de santé dans les différents sites sentinelles impliqués dans la surveillance des fièvres entre avril et juillet (période sèche) lors des missions de supervision (tableau I). L’évaluation conduite par les superviseurs a confirmé que les responsables dans ces sites réalisent correctement les TDR selon les recommandations du fabricant. Il n’y avait pas de décalage entre les résultats des TDR effectués par le personnel de santé dans les sites sentinelles avec des bandelettes stockées sur sites et les TDR réalisés par les superviseurs avec des bandelettes stockées à l’Institut Pasteur de Madagascar. Dix cas d’accès palustres (9,2%) ont pu être confirmés par TDR sur les 109 patients impliqués dans ce contrôle de qualité.

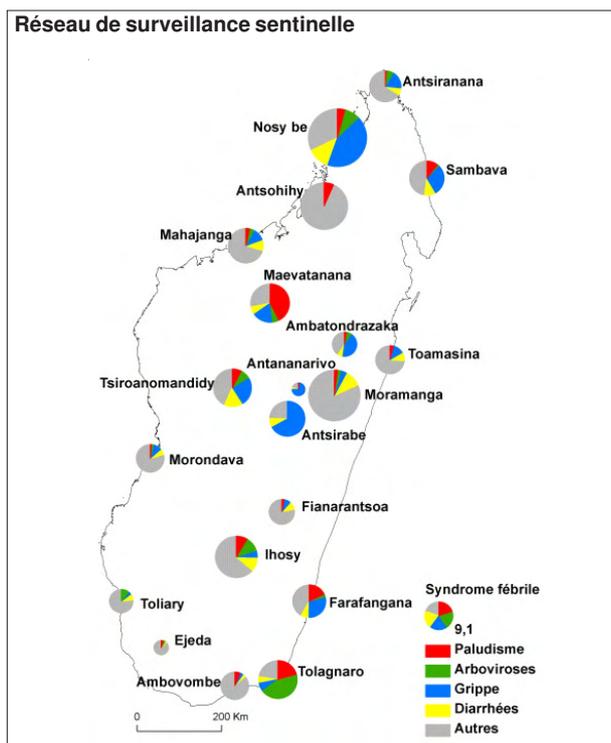
Tableau I : Corrélation entre les résultats de la microscopie et des TDR

Résultats des TDR	Microscopie			Total
	Négatif	Positif	Sans frottis	
<b>Négatif</b>	97	1	1	<b>99</b>
Parasitémie ( $\mu$ l)			16	
<b>Positif</b>	1	9		<b>10</b>
Min de Parasitémie ( $\mu$ l)			48	
Max de Parasitémie ( $\mu$ l)			8750	
<b>Total</b>	<b>98</b>	<b>10</b>	<b>1</b>	<b>109</b>

Pour tous ces tests positifs, les trois bandes sur la bandelette (contrôle, détection de pan-pLDH, détection de pfHDR) ont été visibles en même temps lors de la lecture des résultats. Des frottis sanguins ont pu être acheminés à l’IPM pour 108 patients (99,1%) sur le 109. Cet écart est dû au fait que le TDR fourni par le superviseur étant non valide (non interprétable), le responsable du centre n’a pas jugé utile de faire le frottis. Au total, dix cas d’accès palustres à *Plasmodium falciparum* (9,3%) ont pu être confirmés en microscopie sur les 108 patients impliqués dans ce contrôle de qualité. Cependant, deux résultats discordants ont été notés (tableau I) : i) le résultat de la microscopie a été positif pour un des patients avec un TDR négatif. La charge parasitaire était de 16 trophozoïtes/ $\mu$ l de sang ; ii) et le résultat de la microscopie a été négatif pour un des patients avec un TDR positif. En guise de conclusion, la microscopie étant la méthode de référence pour le diagnostic du paludisme, les résultats de ce contrôle de qualité de TDR sont rassurants.

## 2- RÉSEAU DE SURVEILLANCE SENTINELLE

Afin d'améliorer la réactivité vis-à-vis des risques épidémiques liés aux maladies transmissibles, l'IPM a développé depuis mars 2007 un réseau de surveillance sentinelle avec envoi quotidien d'information par SMS qui est animé par l'unité d'épidémiologie au bénéfice du ministère de la santé. Ayant débuté par la surveillance des fièvres en relation avec la situation dans l'Océan Indien en 2006, ce réseau a intégré aujourd'hui les maladies diarrhéiques et vise à identifier les maladies à potentiels épidémiques avec une alerte précoce. Cette stratégie ne se substitue pas aux systèmes de surveillance classique de routine déjà en place mais se présente comme un outil supplémentaire dont s'est doté le ministère pour identifier plus précocement le risque épidémique et y apporter une réponse plus rapide. D'ici quelques mois pour un certain nombre de sites nous disposerons de données suffisantes pour développer des méthodes d'analyses des séries temporelles.



Ce projet qui apporte une information sur la part du paludisme dans la consultation fébrile est un outil qui bénéficie aujourd'hui d'un financement de l'USAID dans le cadre du suivi d'indicateurs du programme de lutte contre le paludisme à Madagascar.

Ce réseau est également actif dans le cadre du réseau de surveillance de la grippe avec possibilité d'effectuer des prélèvements à la demande. Il est de plus en plus sollicité notamment avec le risque pandémique A H1N1.

## 3- ACTIVITE DE SANTE PUBLIQUE DE L'UNITE D'ENTOMOLOGIE MEDICALE

- Participation aux activités d'appui à la santé publique du service dans le cadre des collaborations avec les acteurs de santé publique au niveau local ou régional (surveillance entomologique, expertises entomologiques, etc.)
- Investigations entomologiques et étude des indicateurs entomologiques des maladies vectorielles autour de cas déclarés de maladies

### ARBOVIROSES

#### VECTEURS IMPLIQUÉS DANS LA TRANSMISSION DE FVR LORS DES ÉPIDÉMIES

Unité d'entomologie médicale : J Ratovonjato, LM Tantely, E Tata, L Andrianaivolambo, N Elissa  
Unité de Virologie : cf rapport annuel

**Financement du projet** : Emergency livestock and human health response to control the outbreak of Rift Valley Fever à Madagascar OSRO/RAF/809/USA Protocole d'accord LOA/MAG/002/2009

#### • Contexte

À Madagascar, il est probable que VFVR circule dans un cycle selvatique et/ou sur le cheptel à très bas bruit, sans manifestations cliniques. Ce virus n'avait pas été isolé à Madagascar depuis 1991.

En 2008, le virus a été d'abord détecté fin janvier dans le district de Taolagnaro (614) chez une femme enceinte dans le cadre d'une surveillance sentinelle mise en place en 2007 par la Direction des Urgences et de la Lutte contre les Maladies (DULM) du Ministère de la Santé, du Planning Familial et de la Protection Sociale, en collaboration avec l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM). La circulation du virus a ensuite été mise en évidence en février dans le district d'Anjozorobe (107) suite à une investigation de la DULMT visant à rechercher la cause de maladies et de décès observés dans la deuxième quinzaine de janvier chez des hommes suite à l'exposition à des bovins malades puis morts. Le dernier cas de FVR a été confirmé fin mai 2008 à Amparafaravola. Au final, des cas humains et animaux ont été confirmés principalement sur les Hauts Plateaux puis au Sud (district de Taolagnaro) et au Nord (district d'Antsiranana).

L'absence de signalisation de cas de FVR pendant la saison sèche et la ré-émergence de VFVR dans les districts de Fianarantsoa I et II en début de saison des pluies 2008-2009 serait en faveur du rôle joué par des vecteurs dans le maintien du virus, compte tenu de la quiescence des œufs de certains vecteurs concernés (*Aedes sp.*) pendant la saison sèche, de leur développement dès que les

conditions climatiques sont favorables et du fait que le virus peut infecter les œufs.

Ces observations soulignent l'importance de mener des investigations poussées sur les populations vectorielles et d'apprécier leur implication dans la transmission de la maladie. Ces enquêtes ont pour but d'aider à la décision et à la priorisation des actions à mener (lutte antivectorielle, limitation du déplacement et du commerce du bétail, vaccination, sensibilisation de la population) pour minimiser les conséquences de la maladie du point de vue socio-économique et santé publique.

### • Description des activités

Elles concernent deux volets complémentaires : l'**investigation entomologique** pour déterminer les espèces vectorielles potentielles présentes autour de ruminants malades et des cas humains (confirmés infectés par VFVR et déclarés par l'Unité de Virologie de l'IPM) et l'**investigation virologique** pour identifier les vecteurs impliqués dans la circulation du virus par l'Unité de Virologie de l'IPM.

### L'investigation entomologique

- En semaine 17, une mission (entomologique) a été organisée conjointement avec une mission de surveillance et de riposte de la Direction des Services Vétérinaires suite à la détection par le Laboratoire National de Diagnostic Vétérinaire d'IgM dirigées contre le virus de

la FVR dans le sérum d'une vache laitière élevée au lieu-dit Aramanda, Fokontany Ezaka, dans la commune d'Ambalavao.

- 2 à 3 nuits de capture ont été effectuées en utilisant les pièges lumineux CDC et des animaux placés sous double moustiquaire. Les identifications ont été réalisées sur site. Les moustiques potentiellement vecteurs ont été rassemblés en pool par espèce, sexe, état de gorgement des femelles (les femelles gorgées sont séparées des femelles non gorgées), mode de capture, emplacement et date de capture.

- Les moustiques ont été conservés dans l'azote liquide en attendant l'arrivée au laboratoire où ils ont été ensuite conservés à -80°C à l'IPM.



### L'investigation virologique

- Les pools de moustiques ont été broyés avec le TissueLyser system (Qiagen), l'ARN extrait des surnageant de broyats avec le kit Qiaamp viral RNA kit

Tableau I : Nombre de lots et de moustiques par espèce en décembre 2008 et avril 2009 dans les districts d'Ambalavao, Fianarantsoa I et II

Espèces de moustiques	AMBALAVAO			FIANARANTSOA I			FIANARANTSOA II		
	N (%)	Moustiques testés pour VFVR	Pools positifs pour VFVR	N (%)	Moustiques testés pour VFVR	Pools positifs pour VFVR	N (%)	Moustiques testés pour VFVR	Pools positifs pour VFVR
<i>Aedes (Aedimorphus) argenteopunctatus</i>	3 (0.05)	3	0/1	0 (0)	0	0/0	1 (0.02)	2	0/1
<i>Aedes (Diceromyia) tiptoni</i>	2 (0.04)	1	0/1	0 (0)	0	0/0	0 (0)	0	0/0
<i>Anopheles (Anopheles) coustani</i>	226 (4.08)	132	0/5	7 (0.47)	5	0/2	96 (1.67)	46	1/2
<i>Anopheles (Cellia) gambiae s.l.</i>	3 (0.05)	2	0/1	67 (4.47)	60	0/4	8 (0.14)	7	0/1
<i>Anopheles (Cellia) mascarensis</i>	160 (2.89)	121	0/4	0 (0)	0	0/0	9 (0.16)	7	0/1
<i>Anopheles (Cellia) squamosus</i>	4122 (74.38)	2854	3/98	32 (2.14)	14	0/6	4212 (73.32)	2550	2/86
<i>Anopheles (Anopheles) maculipalpis</i>	169 (3.05)	41	0/2	0 (0)	0	0/0	0 (0)	0	0/0
<i>Anopheles (Cellia) rufipes</i>	536 (9.67)	272	0/10	0 (0)	0	0/0	0 (0)	0	0/0
<i>Coquilletidia grandidieri</i>	0 (0)	0	0/0	0 (0)	0	0/0	3 (0.05)	1	0/1
<i>Culex (Culex) annulioris</i>	0 (0)	0	0/0	0 (0)	0	0/0	215 (3.74)	1	0/1
<i>Culex (Culex) antennatus</i>	196 (3.54)	161	0/6	1355 (90.45)	890	2/36	909 (15.82)	709	0/27
<i>Culex (Culex) argenteopunctatus</i>	0 (0)			0 (0)			1 (0.02)		
<i>Culex (Culex) bitaeniorhynchus</i>	0(0)			0 (0)			1 (0.02)		
<i>Culex (Culex) decens</i>	9 (0.16)	9	0/1	0 (0)	0	0/0	2 (0.03)	0	0/0
<i>Culex (Culex) giganteus</i>	30 (0.54)	0	0/0	2 (0.13)	1	0/2	48 (0.84)	29	0/1
<i>Culex (Culex) pipiens</i>	0 (0)	30	0/1	8 (0.53)	8	0/4	45 (0.78)	43	0/2
<i>Culex (Culex) poicillipes</i>	61 (1.10)	59	0/2	20 (1.34)	10	0/3	56 (0.97)	39	0/2
<i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i>	1 (0.02)			0 (0)			58 (1.01)		
<i>Culex (Culex) tritaeniorhynchus</i>	0 (0)			0 (0)			3 (0.05)		
<i>Culex (Culex) univittatus</i>	20 (0.36)	16	0/1	7 (0.47)	5	0/4	43 (0.75)	21	0/1
<i>Culex sp</i>	2 (0.04)			0 (0)			35 (0.61)		
<i>Mansonia uniformis</i>	2 (0.04)	2	0/1	0 (0)	0	0/0	0 (0)	0	0/0
<b>TOTAL</b>	<b>5542</b>	<b>3703</b>	<b>3/134</b>	<b>1498</b>	<b>993</b>	<b>2/59</b>	<b>5745</b>	<b>3455</b>	<b>3/126</b>

(Qiagen). La détection du génome de VFVR a été effectuée par technique moléculaire (RT-PCR temps réel).

- Ne comptabilisant que les lots de femelles non-gorgées, 184 pools de Fianarantsoa et 134 pools d'Ambalavao ont été analysés pour la recherche des virus.

## • Résultats

### *Fianarantsoa*

1 498 et 5 745 moustiques ont été capturés respectivement à Fianarantsoa I et Fianarantsoa II. Le nombre de pools et de moustiques est reporté dans le tableau II. Au total, 186 lots constitués de 4 582 moustiques ont été testés.

Suite aux investigations virologiques, 2 lots de *Culex antennatus* d'Antanifotsy (Fianarantsoa I), 1 lot d'*An. coustani* et 2 lots d'*An. squamosus* d'Ampandrabato (Fianarantsoa II) ont été trouvés positifs.

### *Ambalavao*

5 542 moustiques ont été capturés à Ambalavao. Le nombre de pools et de moustiques est reporté dans le tableau I. Au total, 134 lots constitués de 3 703 moustiques ont été testés.

Suite aux investigations virologiques, 3 lots d'*An. squamosus* d'Andohasahalava (Ambalavao) ont été trouvés positifs.

## • Discussion

Les différentes investigations menées ont permis la détection de trois espèces de moustiques vectrices de la FVR dans deux régions de Madagascar.

Ces enquêtes ont été menées à différentes périodes : la première en pleine épizootie, la seconde autour de cas isolés plus d'un mois après la déclaration par les services vétérinaires.

Les différents résultats (entomologiques et virologiques) sont en faveur d'une transmission vectorielle (à bas bruit) du VFVR dans le cheptel Malagasy.

La poursuite de la veille vétérinaire donnera des informations sur les foyers animaux à surveiller, ce qui servira à la mise en place de prospections entomologiques autour des foyers déclarés et à l'évaluation des risques de dissémination du virus.

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

Unité Entomologie médicale : *N Elissa, E Tata, JC Rakotoniaina*

Unité Epidémiologie : *L Randrianasolo*

## Introduction

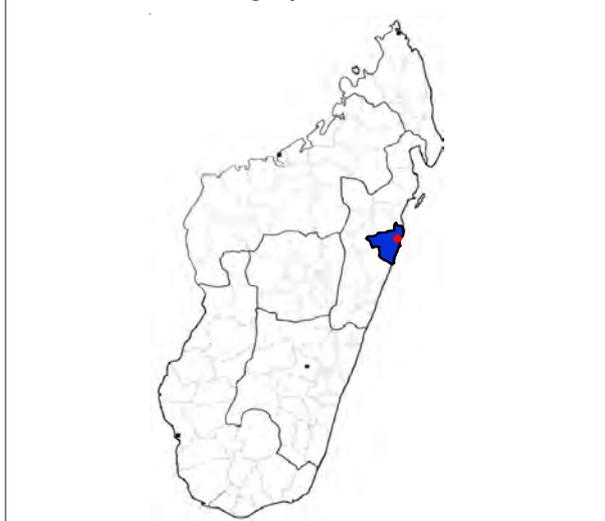
Une épidémie de chikungunya à Toamasina a été déclarée puis confirmée par l'Unité de Virologie de l'IPM. Une équipe de l'Unité d'Entomologie médicale, accom-

pagnée d'un médecin épidémiologiste, s'est rendue sur place. Les investigations entomologiques ont été effectuées du 18 au 20 juin 2009, afin de rechercher la présence du moustique vecteur de cette maladie, d'évaluer sa prolifération et d'estimer les risques de propagation du chikungunya dans les localités avoisinantes.

## Sites d'étude

Les investigations entomologiques ont été effectuées dans les quartiers où des cas ont été déclarés. 4 quartiers de la ville de Toamasina, Anjoma, Verrerie, Tanambao V et Tanamakoia, ont été investigués. 25 maisons en moyenne ont été visitées par site d'étude.

Carte 2 : Zones d'investigations entomologiques autour de cas déclarés de Chikungunya



## Méthodologie

- *Prospections des gîtes potentiels de larves d'Aedes autour des habitations*

La prospection larvaire a concerné tous les gîtes se situant autour des maisons visitées. Pour chacune, une fiche d'information sur la présence et la typologie des gîtes a été documentée. Suivant l'accessibilité des gîtes, les larves de moustiques ont été collectées à l'aide de pipettes à poire, de louches et par siphonage à l'aide d'un tuyau en caoutchouc. Les larves ont été conservées vivantes dans des flacons en plastique contenant de l'eau de gîte additionnée avec de l'eau potable. Une loupe binoculaire a été utilisée pour l'identification morphologique des moustiques après émergence.

- *Echantillonnages de moustiques adultes dans la journée*

Les adultes ont été capturés à l'aide d'aspirateurs à bouche, de pièges lumineux de type CDC, de pièges "BG sentinel" avec des leurres à odeurs humaines synthétiques. Les pièges ont été placés dans les cours ou jardins des maisons sélectionnées d'après la présence de gîtes larvaires et dans la mesure du possible dans celles où au

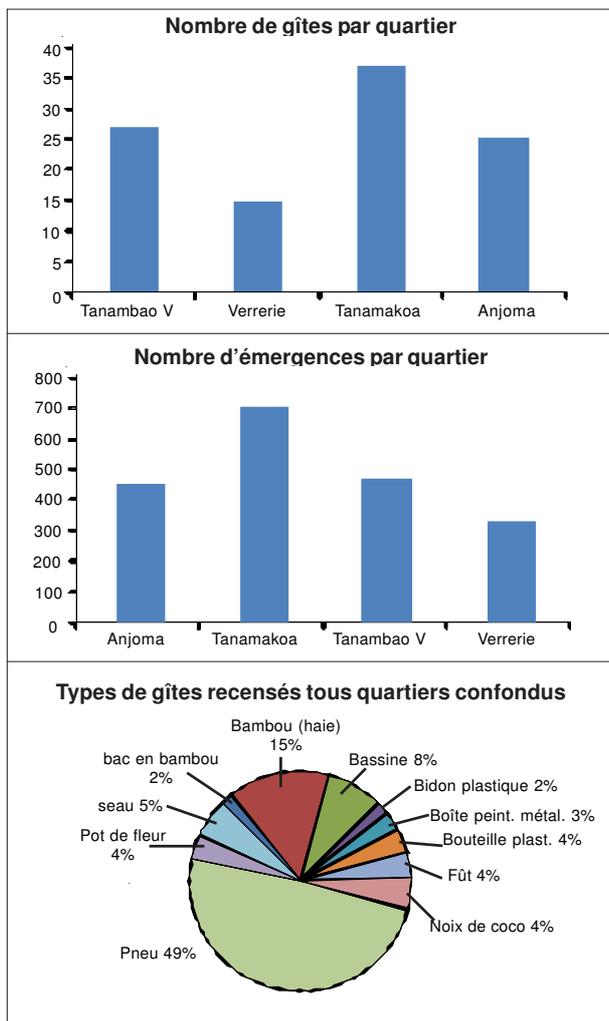
moins un cas de chikungunya a été déclaré (selon questionnaire de porte à porte).

- *Exploitation des échantillons*

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

**Résultats**

Une centaine de gîtes temporaires contenant des larves de moustiques, dont 15 à Verrerie, 25 et 27 à Anjoma et Tanambao V respectivement et enfin 37 à Tanamakoa ont été répertoriés.



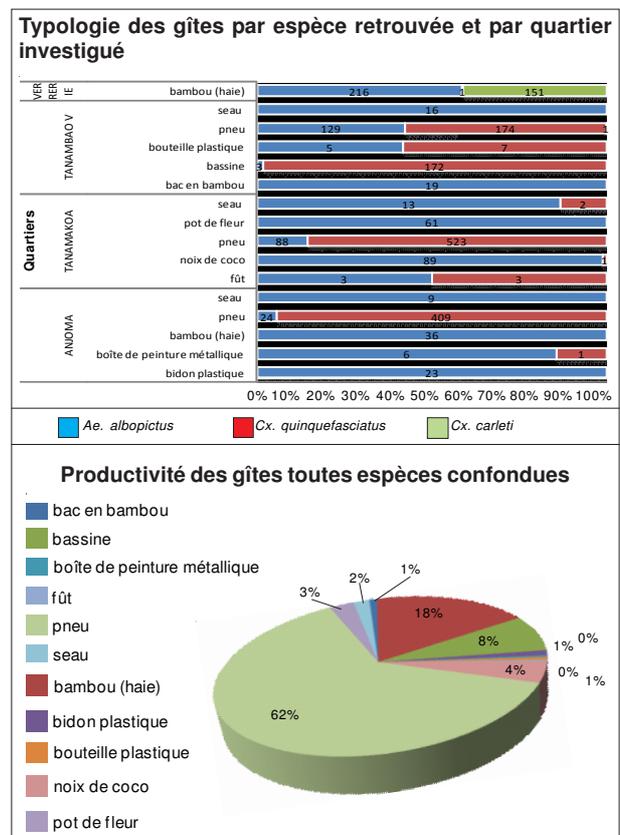
Les gîtes les plus reproductifs se trouvent dans le quartier Tanamakoa avec 708 adultes ayant émergés des larves prélevées suivi des quartiers Tanambao V et Anjoma avec 526 et 508 émergences respectivement. Dans le quartier Verrerie, 368 émergences d'adultes ont été observées.

100% des gîtes retrouvés dans les zones d'études correspondent à des gîtes artificiels, les pneus étant les gîtes artificiels potentiels prédominants puisque retrouvés

à 49% des cas. Les haies de bambou représentent le deuxième gîte le plus important puisque présent à 15% des cas. Les pots de fleurs, les fûts, les bassines, et autres récipients en plastique sont aussi présents sur les lieux quoique en nombre réduit.

Sur l'ensemble des adultes émergés, nous avons retrouvé 3 espèces de moustiques dont *Aedes albopictus* (vecteur du chikungunya), *Culex quinquefasciatus*, et *Cx. carleti*.

Parmi les gîtes artificiels, la plus grande quantité des moustiques toutes espèces confondues a été retrouvée dans les pneus (1 348/2 185). *Ae. albopictus*, vecteur principal du chikungunya a été retrouvé dans tous les gîtes prospectés.



**Conclusion**

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

A l'avenir, il serait important, lors de la planification des stratégies de lutte contre le vecteur, de prendre en compte la participation communautaire par l'élimination des gîtes temporaires de larves de moustiques. La mise en place d'un système de surveillance entomologique permettra de prendre des mesures de prévention par dépistage actif dans les autres districts le long de la côte Est.

## PALUDISME

### PARTICIPATION À L'ÉLABORATION DU PLAN STRATÉGIQUE NATIONAL DE LA LUTTE CONTRE LE PALUDISME À MADAGASCAR ET À LA DEMANDE DE FINANCEMENT DU FONDS MONDIAL VIA LES DEMANDES BASÉES SUR LES STRATÉGIES NATIONALES (NSA)

Unité Entomologie médicale : *N Elissa, J Ratovonjato*

Unité de Paludisme : *cf rapport annuel*

Unité d'Epidémiologie : *cf rapport annuel*

Les Unités Entomologie médicale, Paludisme et Epidémiologie ont contribué activement à la réalisation des documents stratégiques qui ont été soumis au GFATM – NSA.

### RENFORCEMENT DES CAPACITÉS NATIONALES POUR COMBLER LES LACUNES ENTRE LA RECHERCHE/DÉVELOPPEMENT ET LA MISE EN OEUVRE EFFICACE DES INTERVENTIONS DE LUTTE CONTRE LES VECTEURS

Unité Entomologie Médicale : *J Ratovonjato*

Partenaires : *Service de Lutte contre le Paludisme, Vice Primature chargée de la Santé Publique (VPM-SP), Organisation Mondiale de la Santé (OMS)*

**Financement :** *Fondation Bill & Melinda GATES/OMS*

#### Objectifs

Ce projet qui a été mis en place en 2008 à Madagascar a pour objectifs de :

- renforcer l'infrastructure et les capacités institutionnelles et techniques des pays sur la gestion de la résistance des vecteurs aux insecticides,
- finaliser et ouvrir un accès interactif à une base de données globale sur les vecteurs du paludisme et la situation de la résistance,
- faciliter le développement, l'harmonisation et l'utilisation des méthodologies et des systèmes d'appui à la décision dans la lutte contre le paludisme,
- renforcer les capacités des pays à introduire de nouveaux outils dans la lutte contre le paludisme et
- d'assurer une bonne gestion de la résistance des vecteurs aux insecticides.

En janvier 2009, une première revue annuelle a eu lieu à Maputo (Mozambique) entre les responsables au niveau de l'OMS-Afrique de ce projet, les National Project Officers (NPO), les représentants des Programmes Nationaux de Lutte contre le Paludisme et les représentants des Laboratoires Nationaux de Référence (LNR) pour le projet (assuré jusqu'à présent par l'Unité d'Entomologie médicale de l'IPM). Cette première revue a permis de restituer et de discuter des activités réalisées par chacun des 7 pays une année après la mise en place

du projet mais surtout de planifier les activités à réaliser pendant la deuxième année.

*Pour Madagascar, la mise en œuvre des activités de surveillance de la sensibilité des vecteurs aux insecticides prévue dans 6 sites sentinelles n'a pas pu être réalisée du fait du retard de décaissement du financement alloué à ces activités.*

#### Perspectives

- Mise en œuvre des activités au niveau des 6 sites sentinelles dont notamment l'étude de la sensibilité des vecteurs aux insecticides;
- élaboration du Manuel de Procédures Standards pour la surveillance des vecteurs au niveau Pays (activité en rapport avec l'Atelier d'harmonisation réalisé en janvier 2009 à Madagascar);
- mise en place d'une Entomobase avec développement du profil entomologique de Madagascar;
- évaluation de l'efficacité de nouveaux insecticides.

### MISE EN PLACE DU PROJET "SUIVI-EVALUATION ENTOMOLOGIQUE DES CAMPAGNES D'ASPERSION INTRADOMICILIAIRE D'INSECTICIDE" ET ÉTUDE PRÉLIMINAIRE

Unité Entomologie médicale : *J Ratovonjato, JC Rakotoniaina, E Tata, T Ramihangihajason, L Andrianaivolambo, N Elissa*

**Financement :** *Research Triangle Institute (RTI)*

Des enquêtes entomologiques dans 2 localités des Hautes Terres Centrales (HTC) de Madagascar et 1 localité des marges des HTC ont été confiées à l'Unité d'Entomologie médicale de l'IPM dans le cadre d'une convention signée entre l'IPM et RTI. Cette action s'inscrit dans le cadre du Monitoring et Evaluation de la campagne d'aspersion intra-domiciliaire d'insecticide (CAID) (évaluation de la transmission du paludisme, étude de la rémanence de l'insecticide utilisé dans le cadre de la lutte, étude de la sensibilité des vecteurs aux insecticides).

#### Objectif

- Etudier la rémanence de l'alphacyperméthrine (Pyréthroïde), insecticide utilisé dans le cadre de la CAID en décembre 2009 à Madagascar jusqu'à mai 2010; c'est-à-dire jusqu'à six mois après l'aspersion;
- étudier la sensibilité aux insecticides des vecteurs du paludisme dans les mêmes sites.

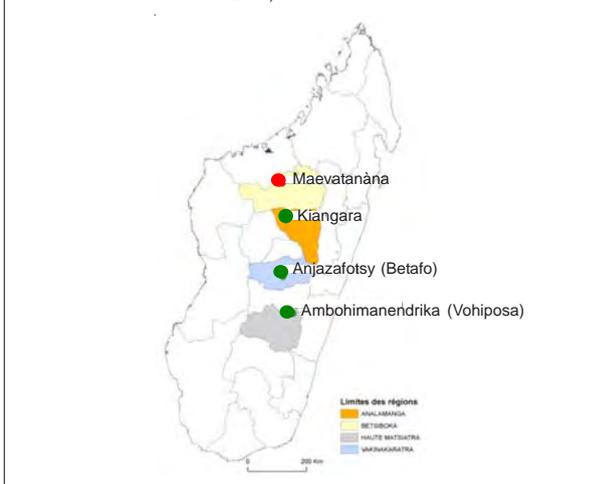
#### Sites d'étude

Pour effectuer une vraie surveillance, les sites d'études ont été choisis dans les sept districts d'intervention de RTI/IRS et qui représentent les HTC et leurs marges. En conséquence, les localités pour constituer les sites prioritaires pendant ces suivis sont trois villages situés

sur les HTC de Madagascar :

- Ambohimandrika (Commune de Vohiposa, District d'Ambohimahasoia);
- Anjazafotsy (Commune d'Andranomafana, District de Betafo);
- Kiangara (Commune de Kiangara, District d'Ankazobe).

**Carte 3 : Carte montrant les sites d'interventions pour les activités de Santé publique nationale**  
(en rouge : site d'investigation entomologique autour des cas de Paludisme ; en vert : 3 sites du monitoring - évaluation entomologique de la Campagne d'Aspersion Intradomiciliaire d'Insecticide 2009)



## Méthodes

### *Capture de moustiques adultes*

Quatre méthodes de captures ont été utilisées :

- capture sur des Hommes sous double moustiquaires non imprégnés d'insecticide,
- capture à l'aide des pièges lumineux à l'intérieur des maisons,
- capture au pyrèthre des moustiques au repos dans les habitations,
- capture de moustiques dans des gîtes de repos à l'extérieur des maisons : recherche des moustiques dans des gîtes de repos et dans des Puits de Muirhead – Thomson (PMT)

*Identification des espèces culicidiennes* sous loupe binoculaire

### *Dissection des anophèles femelles*

Chaque moustique, capturé sur Homme ou récolté après pulvérisation intra-domiciliaire, fait l'objet d'une dissection des ovaires, en vue de déterminer la parturité.

*Identification par PCR* des moustiques appartenant au complexe *Anopheles gambiae*.

*Etude par les méthodes ELISA* de l'inféctivité et de la préférence trophique des vecteurs

## Résultats

Les moustiques collectés lors des deux premières enquêtes sont en cours analyses

## Perspective

Cette enquête préliminaire sera suivie à partir de janvier 2010 de cinq enquêtes mensuelles.

### ENQUÊTES ENTOMOLOGIQUES AUTOUR DES CAS DE PALUDISME DANS LE DISTRICT DE MAEVATANÀNA

Unité Entomologie médicale : *J Ratovonjato, JC Rakotoniaina, T Ramihangihajason, L Andrianaivolambo*

Unité d'Epidémiologie : *cf Rapport Unité Epidémiologie*

Unité Paludisme : *cf rapport Unité Paludisme*

**Financement :** *President's Malaria Initiative (PMI) dans le cadre de la mise en place de la surveillance sentinelle des fièvres à Madagascar*

## Contexte

Suite à l'augmentation des cas de Paludisme confirmés au niveau du site sentinelle de surveillance des fièvres du Ministère de la Santé et du Planning Familial dans le district de Maevatanàna, des enquêtes entomologiques ont été menées du 27 novembre au 4 décembre dans le même district.

## Sites d'étude

Les investigations entomologiques ont été menées dans 5 villages de Maevatanàna (carte 3).

## Méthode de collecte des moustiques

Les quatre méthodes de captures ont été aussi utilisées pour collecter les moustiques adultes.

**Identification morphologique de tous les moustiques, puis par PCR des moustiques appartenant au complexe *Anopheles gambiae***

**Recherche des gîtes larvaires de moustiques** qui a été effectuée à l'intérieur et à l'extérieur de chacun des villages.

Les moustiques collectés et identifiés ont été conservés individuellement à sec dans des plaques de microtitration en attendant des analyses de laboratoire.

**Etude de l'inféctivité et de la préférence trophique des vecteurs par les méthodes ELISA**

## Résultats préliminaires

Au total, 31 moustiques adultes dont 11 *Anopheles funestus* et 20 *An. gambiae s.l.* ont été capturés lors de ces enquêtes. Aucun de ces moustiques n'a été trouvé infecté.

Seules des collections d'eaux le long de rivière d'Andranonjia, près de Mahatsinjo Nord ont permis la collecte de 18 larves d'*An.gambiae s.l.*

## RÉALISATION DES ANALYSES DES MOUSTIQUES AU LABORATOIRE DANS LE CADRE DE L'ÉVALUATION DE LA LUTTE CONTRE LE PALUDISME DANS L'ÎLE DE SAINTE MARIE (MADAGASCAR)

Unité Entomologie médicale : *J Ratovonjato, JC Rakotoniaina, L Andrianaivolambo*

En 2009, à la demande du Service d'Entomologie du Ministère de la Santé et du Planning Familial, 351 *Anopheles gambiae*, 5 *An. arabiensis* ont pu être identifiés par PCR et au total, 430 moustiques ont pu être testés en ELISA repas de sang et CSP dont 1 a été trouvé porteur de *Plasmodium falciparum*.

## 4- LABORATOIRE D'ÉPIDÉMIO-SURVEILLANCE DES PATHOLOGIES DE LA CREVETTE (LES)

*E Chungue, Dr Sc, HDR, chef de laboratoire, Institut Pasteur à Paris - directrice du LES*

*I Razanajatovo, PhD, PSRL*

*HH Solomampionona, technicienne supérieure de laboratoire*  
*BH Joafara, technicien de laboratoire*

### Introduction

Conformément aux prévisions, le Laboratoire d'Épidémio-Surveillance des pathologies de la crevette (LES) est opérationnel depuis début 2008. Cependant hors les activités « pilotes » de 2007 et 2008 dans un site d'élevage confronté à des mortalités liées à la présence de *Vibrio nigripulchritudo* détecté pour la première fois chez *Penaeus monodon* et 2 prestations onéreuses pour le compte de 2 opérateurs en 2008, aucune activité en analyse spécifique au LES n'a été enregistrée en 2009.

En effet, d'une part, le programme national de surveillance des maladies répertoriées à l'Office International des Epizooties (OIE) ciblées par l'Etat Malagasy prévu au 2<sup>nd</sup> semestre 2009 n'a pu être réalisé complètement pour des raisons conjoncturelles puis de disponibilité des partenaires et d'autre part, aucune demande d'analyses n'a été relevée du côté des opérateurs. Cette situation constatée soulève avec plus d'acuité la question de la pérennité financière du LES en tant que tel, avec l'approche de la période post-« projet » donc hors soutien financier (janvier 2011). Le comité de pilotage du 21 décembre 2009 appelle à des travaux de réflexion pour la rédaction d'un rapport synthétisant les perspectives financières du LES, sur la base d'une analyse réaliste des besoins des opérateurs de la filière, des activités induites liées au plan national d'épidémio-surveillance et aux possibilités réalistes de diversification vers d'autres activités/filières.

Toutefois, depuis mai 2009, le LES effectue les confirmations d'espèce et la recherche des facteurs de

pathogénicité par PCR des vibrios isolés des produits de la mer (crevettes principalement) par le Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement (LHAE). Le LES dispose en effet de ces compétences car les vibrios font partie des pathogènes impliqués dans la santé des crevettes. Considérant que cette activité permet outre le maintien de ses compétences, un exercice pédagogique certain pour la jeune équipe en termes de gestion technique (« rodage » du logiciel de gestion de laboratoire, des analyses), relationnelle (sous-traitance, clientèle), ces prestations au bénéfice des opérateurs ont été supportées financièrement par le « projet » jusqu'en décembre 2009. Cette activité entre dans le processus de diversification préconisé.

Parallèlement, les activités de mise en place, d'amélioration et de validation de méthodes ont été poursuivies. Le LES participe également à la formation par l'accueil en stage d'étudiants des universités malgaches et étrangères depuis avril 2008.

### Activités de diagnostic

Nous avons analysé 227 pools d'isolats de *V. parahaemolyticus* et 53 pools d'isolats de *V. cholerae* provenant de lots de produits de la mer analysés par plusieurs méthodes de culture (Centre National de Référence des Vibrios et du Choléra de l'Institut Pasteur/CNRVC, ISO/TS et méthode interne LHAE avec culture sur milieu chromogène CHROMagar Vibrio).

La confirmation d'espèce de *V. parahaemolyticus* par PCR R72H (Lee et al, 1995) est globalement de 82,4% (187/227). Ce taux dépasse 99% avec les souches isolées sur milieu chromogène. Ces 227 pools correspondent à 736 isolats. La recherche des facteurs *tdh/trh* est effectuée par une PCR duplex décrite par Bej *et al* (1999), confirmée par des PCR indépendantes voire par séquençage des amplicons. Les souches sont ensuite transmises au CNRVC.

Le taux de confirmation étant d'emblée plus faible pour *V. cholerae*, les PCR ont été effectuées prospectivement sur des isolats extraits individuellement et en pool pour chaque lot de produits analysés afin d'éviter les faux-négatifs par effet de dilution ou d'inhibition. Un total de 259 PCR *V. cholerae* correspondants à 53 lots à partir desquels 1 à 5 isolats ont été étudiés. La confirmation d'espèce de *V. cholerae* détectée par PCR spécifique (Chun *et al*, 1999) est de 6/53 (11,3%). Les extraits positifs le sont à la fois en individuel et en pool. Aucune souche pathogène (porteur de facteur de pathogénicité *ctxAB*) n'a été détectée.

## Activités de développement des outils de diagnostic

L'amélioration du plateau diagnostique est menée en continu. En 2009, elle a porté sur la mise en place de techniques de PCR en temps réel à usage de criblage pour la détection des virus IHNV et de WSSV ou de test de confirmation. Elle a également concerné les outils de diagnostic et de confirmation d'espèce de *Vibrio parahaemolyticus* et de *V. cholerae* ainsi que de la recherche de facteurs de pathogénicité de ces vibrios. Par contre, le travail initié sur *V. nigripulchritudo* n'a pu être poursuivi par manque de moyens humains.

### • Mise au point d'une technique de détection du virus Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus ou IHNV par PCR en temps réel

Les symptômes et la virulence de la maladie induite par IHNV varient selon les espèces de crevettes Pénéides. Elle se traduit par de fortes mortalités chez la crevette bleue *P. stylirostris* de lignée sensible, une déformation du rostre ainsi qu'une diminution de la croissance chez *P. monodon* et *P. vannamei*. Cette maladie est appelée « runt-deformity syndrome » ou RDS.

Plusieurs PCR conventionnelles pour la détection d'IHNV sont décrites dans le Manuel Aquatique (2006). Cependant, des réactions faussement positives ont été trouvées chez *P. monodon*. Elles sont dues à la présence dans le génome de *P. monodon*, de séquences homologues à IHNV appelées « Type A and Type B related-sequences », la Type A étant retrouvée dans les *P. monodon* d'Australie et d'Afrique de l'Est dont Madagascar et la Type B dans les crevettes de Tanzanie. Tang *et al.*, en 2007 ont décrit des primers spécifiques de IHNV (309F/R) et des primers spécifiques de la séquence de type A (MG831F/R), permettant ainsi un diagnostic différentiel pour le diagnostic d'IHNV dans la crevette *P. monodon* de Madagascar. Ces PCR sont en place au LES depuis 2008. En 2009, nous avons entrepris d'adapter la PCR conventionnelle utilisant les primers spécifiques 309F/R en PCR temps réel SYBR Green, plus rapide et présentant moins de risques de contamination.

Deux sources de réactifs (LightCycler SYBR Green et Kapa SYBR Fast qPCR Kit), avec des cycles et températures d'amplification appropriés ont été testées. La sensibilité de la PCR temps réel est équivalente et supérieure à celle de la PCR conventionnelle (2 copies vs 20 copies). La valeur du T<sub>m</sub> mesurée pour chaque système est différente mais stable (80,3 vs 78,5).

Une PCR IHNV Taqman « universelle », détectant l'ADN infectieux et les séquences apparentées, a également été mise en place en utilisant les primers 1608F/1688R et la sonde 1632/1634 doublement marquée

par TAMRA (en 5') et BHQ1 (en 3'). Cette PCR servira au criblage avant vérification de la spécificité par la PCR spécifique décrite ci-dessus.

### • Développement des outils de diagnostic de *V. parahaemolyticus* et *V. cholerae*

L'étape d'extraction d'ADN bactérien a été modifiée après vérification de son efficacité. Les résultats de la détection par PCR à partir d'ADN extrait à partir de « pool de colonies » provenant d'isolats d'un même lot de produits ont également été comparés à ceux des extraits obtenus individuellement. La comparaison de 2 méthodes d'identification moléculaire de *V. parahaemolyticus* par PCR a été initiée.

**Comparaison de 2 méthodes d'extraction.** Une méthode d'extraction par chauffage et purification par adsorption sur des billes de chelex (Instagène – Biorad), moins fastidieuse, plus rapide (1h) a été comparée à la méthode classique d'extraction au chloroforme-phénol (4h). L'ADN bactérien provenant d'une à deux colonies de chaque isolat a été extrait avec les 2 méthodes puis soumis aux mêmes PCR de détection de *V. parahaemolyticus* (46 isolats) et de *V. cholerae* (50 isolats). Les mêmes résultats ont été obtenus avec les 2 méthodes d'extraction.

### Détection des vibrios à partir d'extraits de pools de colonies (isolats) par PCR.

Le protocole de culture de *V. parahaemolyticus* et de *V. cholerae* utilisé dans l'analyse des produits de la mer exige l'examen d'un minimum de 5 colonies suspectes. Afin de réduire le coût et la charge de travail, une étude sur l'efficacité d'une PCR sur un extrait d'ADN obtenu à partir de colonie individuelle (isolat) ou de « pools » de 2 à 5 colonies de *V. parahaemolyticus* (présomptifs) ou de *V. cholerae* (présomptifs) a été effectuée. Treize pools (45 isolats) de *V. parahaemolyticus* présomptifs et 50 pools (198 isolats) de *V. cholerae* présomptifs ont été ainsi testés. Le taux d'agrément entre les résultats obtenus individuellement ou en pools est de 100% pour les 2 espèces de vibrios (présence ou absence de *V. parahaemolyticus* ou *V. cholerae* dans le lot de produit analysé).

En conclusion, les méthodes de confirmation d'espèce par PCR de *V. parahaemolyticus* et *V. cholerae* ont été optimisées à la fois au niveau de l'étape d'extraction de l'ADN et de la PCR. Ces modifications ont permis de réduire significativement les délais d'obtention des résultats et une diminution des coûts en testant en pool soit une seule PCR par échantillon analysé.

### ***Comparaison entre 2 méthodes d'identification d'espèce de V. parahaemolyticus par PCR***

La méthode PCR utilisée en routine par le LES pour la confirmation d'espèce de *V. parahemolyticus* décrite par Lee *et al* (1995) cible un gène non codant R72H dont le pouvoir discriminant avec *V. alginolyticus* a été démontré par Robert-Pillot *et al* (2002). Cette méthode est largement utilisée dans le monde dont le CNRVC. Cependant, des travaux récents (Rosec *et al*, 2009 ; Croci *et al*, 2007) ont décrit une moins bonne sensibilité de la « PCR R72H » comparée à la PCR ciblant le gène *toxR* décrite par Kim *et al* (1999). Croci *et al* ont montré une sensibilité pour la PCR *toxR* de 100% vs 58% pour la PCR R72H (n=48). Ces données récentes nous ont amené à initier une étude comparative de ces 2 méthodes à partir des souches isolées dans les produits de la mer de

Madagascar. Contrairement à ces auteurs, nos travaux préliminaires portant sur 63 isolats isolés et identifiés phénotypiquement comme *V. parahaemolyticus* ou *V. alginolyticus* montrent un agrément de 95.2 % entre les 2 méthodes. Le pourcentage de confirmation est plus élevé avec la PCR *toxR* (69,8% vs 68,2%, p<0.001) sans atteindre une telle différence (100% vs 58%). Cette différence de sensibilité pourrait être due à l'origine des souches étudiées. Une étude prospective comparative est en cours de réalisation.

### **Perspectives de recherche**

L'étude de la distribution géographique et la caractérisation moléculaire de *V. nigripulchritudo* et de *V. parahaemolyticus* sont à envisager.

---

---

# **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
- **EH Ratsima** : médecin biologiste, adjoint au chef de service
- **F Randrianirina** : médecin biologiste, adjoint au chef de service
- **L Ramparany** : médecin biologiste, adjoint au chef de service
- **C Raharisolo Vololonantenaina** : médecin, responsable du laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques

## LABORATOIRE D'ANALYSES BIOMÉDICALES (LABM)

Le Centre de Biologie Clinique (CBC) est un Laboratoire d'Analyses Biomédicales polyvalent au service du public mais aussi des projets de recherche de l'IPM.

En terme de ressources humaines, notre laboratoire dispose :

- 4 biologistes
- 1 médecin spécialisé en anatomo-cytologie pathologiques
- 2 responsables qualité dont 1 en formation
- 1 médecin à mi-temps responsable du prélèvement vaginal
- 1 sage femme
- 1 surveillante
- 17 techniciens de laboratoire
- 2 aides techniciens de laboratoire
- 2 garçons de laboratoire
- 8 secrétaires
- 1 correspondant qualité

*Le CBC fonctionne en heure continue de 7 heures à 17 heures et reçoit en moyenne 250 à 300 patients et/ou prélèvements par jour.*

*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, le CBC participe à des programmes spécifiques et multicentriques de recherche opérationnelle au sein du Réseau International.*

*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 LHAE 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 internes en biologie médicale et des techniciens de laboratoire à Madagascar et zone Océan Indien.*

## 1- Principales ressources en matériels

### • Matériels informatiques

- 2 serveurs bull doublé par système back-up
- 22 micro-ordinateurs servant d'écrans à l'unité centrale.
- 18 imprimantes dont 4 code à barre pour l'accueil
- 1 logiciel Hexalis (Agfa-Healthcare)

### • Automates de laboratoire

#### *Biochimie*

- 1 VITROS 250 (avec connexion bidirectionnelle, identification code barre)
- 1 VITROS 350 (avec connexion bidirectionnelle, identification code barre)
- 1 MINICAP (Sébia)
- 1 équipement K20 + scanner Epson V750
- 1 Automate d'HbA1c DCA Vintage Biorad

#### *Hormono/Immuno*

- 2 VIDAS PC Biomérieux en connexion monodirectionnelle
- 2 AxSYM ABBOTT (connexion bidirectionnelle)

#### *Hématologie*

- 1 Start 4 Stago
- 1 centrifugeuse Carte gel Groupe RAI BIORAD
- 1 centrifugeuse Carte gel Groupe DIAMED
- 2 Automates Sysmex ® : XT2000i et XT1800i

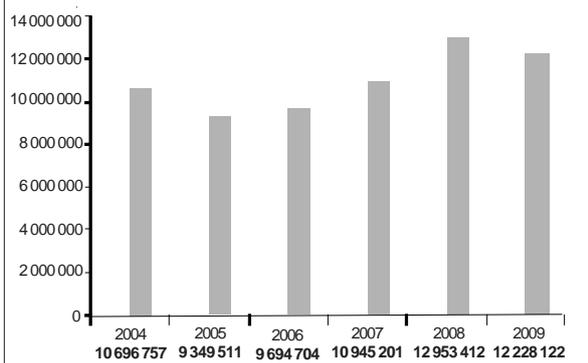
#### *Bactériologie*

- 1 OSIRIS BIORAD
- 1 Inoculateur pour CMI
- 1 système Scan'Bac, 2SI
- 2 PSM

## 2- Activités du LABM

Globalement, l'évolution des activités du service évaluées en nombre de B durant les 5 dernières années est représentée par le graphe suivant.

Figure 1 : Evolution de l'activité du laboratoire en nombre de B totaux incluant examens transmis (équivalent nomenclature française)



Pour les activités spécialisées

	Anatomo-cytopathologies		
	Sérologie cysticercose	Frottis vaginal	Biopsies
<b>Demandes</b>	5 179	20	627 480
<b>Dem./jour</b>	2 476	10	148 560
<b>B totaux</b>	356	2	37 850

### 3- La qualité au CBC

Responsable qualité : C Teillet

Une démarche qualité est en cours au CBC depuis plusieurs années. Cette dynamique est incluse dans la politique Qualité de l'IPM avec comme objectif une accréditation du secteur bactériologie selon la norme ISO 15189 en 2011. Depuis début 2009, une nouvelle dynamique a été lancée au CBC pour l'amélioration de la Qualité. L'ensemble du laboratoire est concerné par la démarche Qualité et des formations/informations liées à ce projet sont régulièrement effectuées auprès du personnel.

Eléments principaux commencés et/ou mis en œuvre à ce jour :

- formalisation de la gestion documentaire,
- gestion des anomalies, réclamations clients, non conformités, actions correctives et préventives,
- élaboration des indicateurs,
- gestion des enregistrements,
- revue de direction,
- gestion du personnel,
- gestion du matériel,
- mise en conformité avec la norme pour la partie pré analytique,
- développement des validations de méthode,
- définition de l'activité en processus.

### Quelques Résultats présentés en revue de direction

Résultats des EEQ et des comparaisons interlaboratoires

Pour l'année 2009, le bilan des comparaisons inter laboratoires est résumé dans le tableau suivant.

	Probioqual CQ						Afssaps tout domaines	
	chimie par semaine		biochimie urinaire par mois		immuno-dosage avec marqueur		hémostase	
	2008	2009	2008	2008	2008	2009	2008	2009
<b>Nombre d'enquêtes proposées</b>	50	53	18	17	12	6	17	16
<b>Nombre d'enquêtes effectuées</b>	43	47	15	14	12	5	16	16
<b>% participation</b>	86	88,7	83	82,4	100	83,3	94	100
<b>Score global tous analytes confondus</b>	7,5	/	7,1	7,7			8,1	7,3

### Bilan des déclarations des anomalies et non-conformités

En 2009, 274 fiches d'anomalies (123)/non conformités (151) ont été enregistrées dans le système Qualité.

Au 22 janvier 2010, les données sont les suivantes :

<b>Nombre de déclarations</b>	274
<b>Nombre de fiches soldées</b>	243
<b>Pourcentage de fiches soldées</b>	88,7%
<b>Délai moyen des traitements des fiches d'ANC en jours</b>	36

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
<b>Nbre déclarations d'anomalies/NC</b>	5	32	28	21	25	28	38	15	19	22	13	28

### ACTIVITÉS DE RECHERCHE ET DE SANTÉ PUBLIQUE

L'une des missions du CBC est de participer à des études de Santé Publique le plus souvent sur la demande des autres Unités de l'IPM. Certaines d'entre elles s'inscrivent dans une logique de veille microbiologique et constituent un véritable système de surveillance des maladies infectieuses émergentes.

#### 1- ETIOLOGIE DES DIARRHÉES INFANTILES À MADAGASCAR

Investigateur principal : Frédérique Randrianirina

##### Objectifs principaux

- Evaluer la fréquence des différents pathogènes responsables de diarrhées chez l'enfant à Madagascar
- Etudier leur résistance aux antibiotiques

##### Objectifs spécifiques

- Identifier un site d'étude des diarrhées infantiles graves
- Réaliser une cartographie des étiologies.

##### Méthodologie

Cette étude est faite dans 14 régions de Madagascar à climats différents. Sur chaque site, en moyenne 200

prélèvements dont 150 cas et 50 témoins sont nécessaires.

### Principaux germes recherchés

- Bactéries : Salmonelles, Shigelles, Campylobacter, *Escherichia Coli* entéropathogènes (enfants < 02 ans)
- Virales : Rotavirus et Adenovirus
- Parasitaires : surtout les formes végétatives des *Entamoeba histolytica*

Cette étude a commencé en 2008 et le recrutement s'est arrêté en mai 2009. Au total, 2 802 prélèvements ont été reçus.

### Résultats préliminaires

Succinctement les germes isolés au cours de cette étude sont :

- 295 campylobacters dont 212 *C.jejuni*, 73 *C.coli*, 6 avec les 2 espèces et 4 *Campylobacters* sp.
- 42 Salmonelles en cours de typage sérologique.
- 43 shigelles dont : 29 *S.flexneri*, 04 *S.boydii*, 2 *S.dysenteriae*, 4 *Shigella* sp

La recherche de rotavirus et adenovirus par ELISA est en cours au laboratoire de virologie de l'Institut Pasteur de Madagascar.

## 2- EVALUATION DU TEST RAPIDE "DRY SPOT" POUR L'IDENTIFICATION DES CAMPYLOBACTERS

Investigateur principal : *Frédérique Randrianirina*

Le typage des espèces des campylobacter a été fait par méthode moléculaire, cette étude nous a permis d'évaluer en parallèle la technique rapide par agglutination "Dry Spot" de la marque OXOÏDE. Le résultat est concluant et un article est en cours de préparation à ce sujet.

Les CMI des campylobacters sont en cours.

## 3- ÉTUDE DE MÉCANISME DE RÉSISTANCE À L'IMPÉNÈME DES SOUCHES D'ACINETOBACTER BAUMANII ISOLÉES À ANTANANARIVO

Investigateur principal: *Elisoa Ratsima*

### Objectif

Déterminer les supports et mécanismes génétiques des résistances à l'Imipénème des *Acinetobacter baumannii* isolés au Centre de Biologie Clinique IPM.

### Collecte des souches

53 souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées des différents prélèvements provenant des Centres Hospitaliers de la ville d'Antananarivo, du septembre 2006 au mai 2009, durant l'enquête sur les infections nosocomiales, et trouvées intermédiaires ou résistantes

à l'Imipénème par antibiogramme par diffusion en milieu gélosé, ont été étudiées.

## Etude de la sensibilité des souches à l'Imipénème

La sensibilité aux antibiotiques a été testée par méthode de diffusion pour Amikacine, Gentamycine, Tobramycine, Aztréonam, Ceftriaxime, Ciprofloxacine, Ticarcilline/Acide clavulanique, Piperacilline/Tazobactam et Sulfaméthoxazole/Triméthoprime.

Toutes les souches ont présenté une multi-résistance à l'ensemble de ces antibiotiques.

## Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) à l'Imipénème

La valeur de CMI pour l'Imipénème a été déterminée par méthode de dilution en milieu solide avec l'utilisation de l'appareil de Steers :

CMI (mg/l)	Nombre de souches	%
16	13	24,5
32	39	73,6
64	1	1,9

## Détermination des supports et mécanismes génétiques de résistance à l'Imipénème

• Une étude phénotypique de mécanisme de résistance à l'Imipénème a été réalisée :

- Aucune souche ne produisait une métallo-β-lactamase (absence de synergie entre disque imprégné d'Imipénème et disque imprégné d'EDTA)

- 37 souches présentent une hyperproduction de céphalosporinase (utilisation de gélose MH avec cloxacilline).

• Une recherche de gènes de résistance a été effectuée par PCR :

- Toutes les souches ont présenté les gènes de résistance naturelle *bla<sub>OXA-69</sub>*, *bla<sub>AmpC</sub>*

- Les gènes de résistance *bla<sub>OXA-51</sub>* et *bla<sub>OXA-23</sub>* ont été aussi trouvés chez toutes les souches ainsi que la séquence d'insertion *ISAbal*

→ Toutes les souches ont présenté des enzymes β-lactamases de la classe D d'Ambler qui sont les oxacillinases de type OXA : *OXA-23* et *OXA-51*.

• Une étude de clonalité par REP-PCR a été réalisée nous permettant de déterminer 2 clones, circulants dans les différents hôpitaux de la capitale selon le tableau suivant :

Hôpitaux	Clone 1	Clone 2
CHU-HJRA	16	4
Hôpital Militaire	18	6
CHU Befelatanana	3	0
Maternité Befelatanana	1	0
Exeat de l'hôpital	3	2

*C Raharisolo Vololonantenaina* : médecin, responsable du laboratoire

*Le laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques (LACP) est connu depuis l'existence de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM). Il fut un temps où il était le seul laboratoire exerçant dans tout le pays. Pendant longtemps, ce laboratoire était indépendant et depuis le départ du Dr JL Pécarrère en 1996, le Dr C Raharisolo Vololonantenaina a pris la responsabilité du laboratoire. Actuellement le LACP fait partie du Centre de Biologie Clinique dirigé par un Pharmacien Biologiste. Le Dr C Raharisolo Vololonantenaina travaille seule faisant fonction de pathologiste.*

*Ce laboratoire est reconnu sur le plan national, nous sommes actuellement très sollicités par les collègues cliniciens. A travers des demandes d'avis et d'expertise qu'il envoie en France depuis l'année 2004, il est également reconnu en Ile de France.*

*Le personnel du laboratoire comprend un médecin titulaire d'une AFS et d'une AFSA en anatomie et de cytologie pathologiques, un technicien, une secrétaire et un agent de laboratoire qui travaillent à mi-temps. Les prélèvements proviennent de tous les centres de santé existant dans la capitale, dans ses environs et même dans les provinces mais plus particulièrement des services de Chirurgie du CHU-HJRA, du Centre Hospitalier de Soavinandriana (CenHoSoa), des services de médecine du CHU-Hôpital Général de Befelatanana (CHU-HJRB), et de l'unique service d'oncologie du CHU-HJRA.*

#### **1- ACTIVITÉS DE SERVICE**

Globalement, les activités du LACP représentent 313870 B vs 382990 B en 2008. La répartition des différents examens est représentée par le tableau I. Par rapport à l'année précédente, les activités du LACP ont baissé. Cette diminution est de l'ordre de 18%. La crise politique qui prévaut à Madagascar durant toute l'année 2009 jusqu'à ce jour a probablement joué un rôle dans cette baisse d'activités. Cependant, nous continuons à recevoir des prélèvements provenant de tous les centres de santé existant dans la capitale, dans ses environs et parfois dans les provinces. Plus particulièrement, les prélèvements provenant des services de Chirurgie du CHU-HJRA, du Centre Hospitalier de Soavinandriana (CenHoSoa), des services de médecine du CHU-Hôpital Général de Befelatanana (CHU-HJRB), et de l'unique service d'oncologie du CHU-HJRA repré-

Cette fréquence de souches résistantes à l'Imipénème dans les hôpitaux d'Antananarivo reste intrigante. Elle peut difficilement être expliquée par une pression de sélection importante puisque l'Imipénème n'est pas disponible à Madagascar et que les résistances croisées entre l'Imipénème et les autres  $\beta$ -lactamines sont très rares.

#### **4- EVALUATION DE LA PERFORMANCE DE 4 KITS IMMUNOCHROMATOGRAPHIQUES POUR LA DÉTECTION DE LA TROPONINE Ic**

Investigateur principal: *Lovaso Ramparany*

##### **Objectifs**

Déceler le test le plus performant de 4 tests rapides évalués visant à détecter la Troponine Ic pour le diagnostic de l'infarctus du myocarde. Ceci afin d'établir un diagnostic rapide pour une prise en charge thérapeutique dans le meilleur délai. Donner des recommandations pour son utilisation dans les hôpitaux d'Antananarivo.

##### **Specimen**

L'étude a été réalisée sur un total de 210 sérums dont 100 sont des sérums négatifs, 100 des sérums positifs et 10 des sérums négatifs mais positifs en facteur rhumatoïde. Les sérums positifs en facteur rhumatoïde permettent de vérifier si le test présente une interaction induisant un résultat faussement positif.

##### **Méthode**

Comparer les performances respectives des 4 tests rapides évalués dont Troponitest de AllDiag, Amichek-tropI, test Troponine IcTnI (sang/sérum/plasma) de nal von minden, Hexagon troponine avec les résultats obtenus avec l'Architect Troponin I (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Germany).

##### **Résultat**

Le résultat obtenu est concluant et un article est en cours de préparation.

##### **Conclusion**

Les activités du Centre de Biologie Clinique de l'Institut Pasteur de Madagascar ne se limitent pas aux analyses de Biologie Médicales mais répondent aussi aux missions de l'IPM de formation et de recherche. Les perspectives pour l'année 2010 sont d'améliorer les services rendus aux patients via la démarche Qualité du laboratoire, de maintenir les formations autant pour le personnel que les partenaires du CBC et de continuer les activités de recherche pour la santé publique.

sentent 57% de nos demandes. La figure 1 représente l'évolution de nos activités depuis l'année 2003.

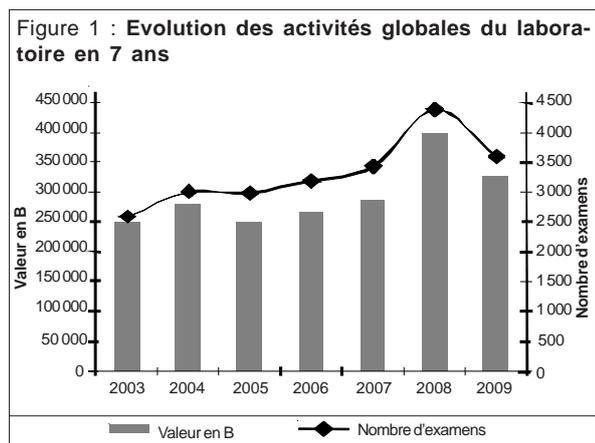


Tableau I : Activité totale du LACP

Type d'examen	Nombre de demande	Nombre de B
Examen anatomopathologique	2 476	78 580
Frottis cervicaux utérins	1 083	134 010
Cytologie de liquide divers	262	25 480
Cytoponction	26	2 880
Cytologie hormonale	5	1 100
Apposition	3	180
<b>Total</b>	<b>1 725</b>	<b>150 860</b>

#### • Examens anatomopathologiques

Les pièces opératoires constituent les 41% des prélèvements communiqués, les biopsies et les biopsies exérèses font 53% et les produits d'aspiration et les produits de curetage utérin comptent 6%. Le plus gros de notre recrutement est représenté par les pathologies gynécologiques avec 342 cas (34%) dominés par ceux du sein et du col, et les pathologies digestives (19%).

Une pathologie tumorale a été observée chez 38% des malades, elle correspond à 375 cas dont plus de la moitié sont des tumeurs malignes 218 cas. Les 65% des cancers ont été diagnostiqués chez des sujets de sexe féminin. Toutes localisations et tous sexes confondus, les localisations cancéreuses les plus fréquemment observées sont le sein 21% (46 cas), puis le segment rectocolique avec 18% (40 cas), le col utérin vient au troisième rang avec un taux de 9% (20 cas). Le reste est réparti de façon très disparate.

Les cas difficiles ont fait l'objet de discussion avec les autres pathologistes malgaches. Une vingtaine de cas ont été envoyés dans divers services d'ACP en France pour demande d'avis et pour immunohistochimie (IHC).

#### • Frottis cervicaux utérins

Ils représentent presque la moitié de nos recrutements. Les 90% des prélèvements sont faits à l'IPM par

un médecin spécialement affecté à ce poste. Depuis le mois d'octobre 2008, tous les examens de dépistage de cancer du col utérin (FCU) sont paramétrés dans le nouveau logiciel Hexalys utilisé par le Centre de Biologie Clinique.

#### • Cytoponction / cytologie diverse

294 dossiers ont été enregistrés pour l'année (tableau II).

Tableau II : Cytoponction et cytologie diverse

Prélèvement	Nombre de demande	%
Lavage bronchio-alvéolaire	94	32
Cytoponction	34	12
Liquide pleural	49	17
Crachat	41	14
Liquide d'ascite	28	10
Apposition	3	1
Liquide céphalo-rachidien	35	12
Autres liquides	10	3
<b>Total</b>	<b>294</b>	<b>100</b>

#### • Discussion et perspective

Pour le LACP, les activités de service et celles de la santé publique sont confondues. Pour palier la baisse de nos activités, nous projetons de faire l'Immunohistochimie (IHC). L'utilisation de cette technique nécessite une formation adéquate des techniciens. En janvier 2009, la Pathologie Cytologie Développement (PCD), une association composée de pathologistes français, a organisé à Antananarivo des journées de formation continue en anatomie et cytologie pathologiques sur le thème de cancers et pratique médicale. Durant ces journées, il y a eu la première année de formation des techniciens de LACP. En principe, cette formation dure 3 ans et pour cette année 2010, elle devra continuer sur les techniques de l'IHC. Cette formation a pour but d'actualiser les niveaux des techniciens et de les apprendre à faire les techniques de l'IHC. Deux techniciennes de l'IPM ont participé à cette formation. A l'issue de cette formation, nos techniciennes seront capables de pratiquer l'IHC. Cette technique nous permettra :

- de raccourcir le délai de rendu des résultats des cas difficiles que nous devrions expédier en France donc d'attendre au moins un mois pour avoir le compte rendu définitif. Ceci n'est pas très bénéfique pour le malade car le médecin traitant doit attendre l'arrivée du compte rendu définitif avant de commencer ou de modifier les conduites thérapeutiques,

- d'apporter plus de précision et de fiabilité à nos diagnostics. Cela créera une confiance absolue des cliniciens en nos compétences et au LACP,

- d'augmenter nos activités car actuellement, aucun

des LACP existant à Madagascar ne fait pas l'IHC. La pratique de l'IHC à l'IPM entraînera une croissance du nombre de demandes et par conséquent du nombre de B. Actuellement, il existe des cas diagnostiqués dans d'autres LACP qui viennent chez nous pour être envoyés en France uniquement pour des études immunohistochimiques.

## 2- ACTIVITÉ DE SANTÉ PUBLIQUE

L'activité de santé publique est assimilée aux activités de service.

En janvier 2009, le Ministère de la Santé et du Planning Familial, par le biais du service oncologie, nous a sollicités à continuer le travail fait en décembre 2008 sur la lutte contre le cancer à Madagascar.

## 3- ACTIVITÉS DE RECHERCHE

### Etude de la fréquence de l'infection par *Helicobacter pylori* (*Hp*) des patients présentant une pathologie gastro-duodénale, de la sensibilité des souches aux antibiotiques et de la diversité de la région 3' du gène *cagA*

IP Dakar : *S Breurec*

IPM : *C Rahariso Vololonantenaina, JB Chretien, E Corradi, A Bourdier, JF Carod, M Ratsitorahina*

HJRB : *R Ramanampamonjy*

Financement : ACIP - IPP

#### • Introduction

Il s'agit d'une étude multicentrique associant plusieurs Instituts du Réseau International des Instituts Pasteur (Sénégal, Algérie, Madagascar, Cambodge, Grèce) et l'Institut Pasteur à Paris. Il est la continuité d'une 1<sup>ère</sup> ACIP, menée en 2004 au Cambodge et en Nouvelle-Calédonie. Cette année a été marquée par la difficulté et la lenteur d'obtention des autorisations administratives pour le démarrage du projet. L'inclusion des patients a commencé en avril 2007

#### • Contexte national

A Madagascar, une étude épidémiologique a été effectuée à l'Hôpital Joseph Raseta de Befelatanana, service de Médecine Interne. Chez des patients entrants de plus de 15 ans, la séroprévalence de l'infection à *Helicobacter pylori* était de 82,2%. Aucune donnée n'est disponible concernant l'isolement de l'*Hp* chez des patients atteints de pathologie gastro-duodénale et concernant le profil de résistance de cette bactérie aux antibiotiques.

#### • Rappel des objectifs

Les objectifs étaient la mise en place ou la consolidation au niveau de chaque site (Algérie, Cambodge,

Grèce, Madagascar, Sénégal) d'un réseau de compétence pour l'étude des pathologies gastro-duodénales liées à *Hp* associant microbiologistes, anatomo-pathologistes et gastro-entérologues, d'une étude de la pathologie gastro-duodénale associée à l'infection par *Hp* chez des patients examinés en milieu hospitalier, d'une étude bactériologique avec culture, identification et étude de la sensibilité aux antibiotiques de *Hp*, et d'une étude de la diversité de la région 3' du gène *cagA* et de son lien avec la pathologie gastro-duodénale associée.

Cette ACIP sert de base à un projet Européen ERANET "Pathogenomics", financé par l'Agence Nationale de la Recherche pour la partie française, associant les Instituts du RIIP concernés par l'ACIP, l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie, l'Institut Louis Malardé à Tahiti, l'Institut Pasteur à Paris, l'Institut Max Planck de Berlin, la Faculté de Médecine d'Hanovre et leurs laboratoires partenaires dans le monde (Cameroun, Indonésie, Java Kenya, Namibie et Nouvelle-Guinée). Cette étude a eu l'aval du Comité d'éthique malgache.

#### • Méthodologie

Critère d'inclusion : patients ayant accepté de participer à l'étude et présentant une affection gastro-duodénale non traitée. Ils ont fait l'objet d'un examen endoscopique avec biopsie, des prélèvements sanguins pour une sérothèque et une culotèque.

L'étude comporte deux volets bien distincts :

- un volet bactériologique : isolement à partir des biopsies antrales et fundiques, sérothèque et culotèque.
- un volet anatomopathologique

Tout ce qui est dans le domaine de bactériologie est confié aux volontaires internationaux, internes en biologie (JB Chrétien, E Corradi et A Bourdier), sous la direction du Dr JF Carod, chef de service du Centre de Biologie Clinique de l'Institut Pasteur de Madagascar. Pour la bactériologie, il s'agit d'un isolement des souches pour extraction d'ADN, un test à l'urée et une coloration de Gram pour identification de l'agent pathogène.

Le volet anatomopathologique des biopsies gastriques (antre et fundus) est assuré par le Dr C Rahariso Vololonantenaina (IPM). Son rôle est d'établir le diagnostic suivant des critères communs à tous les sites participant.

Tous les blocs de paraffine sont ensuite envoyés au Dr M Huerre à l'IPP, responsable de la standardisation de la lecture sur l'ensemble des sites, pour une deuxième lecture.

#### • Patients inclus

75 patients sont inclus à l'étude, soit 39 hommes

(52%) et 36 femmes (48%). La moyenne d'âge est de 43,63 ans.

#### • Résultats

##### **Anatomopathologiques**

*Dr C Raharisolo Vololonantenaina*

Sur les 75 patients inclus dans l'étude, 58 soit 77,3% sont porteurs d'*Hp* au niveau de l'antrum ou du fundus ou les deux. Tous ces patients porteurs de *Hp* ont une gastrite chronique non atrophique dans 85% des cas. Pour la métaplasie intestinale c'est l'inverse car on l'a trouvé seulement dans 15% de ces malades. Aucune lésion de dysplasie ni d'adénocarcinome n'a été trouvée sur tous les prélèvements examinés. Tous ces résultats ont été confirmés par le Dr M Huerre de l'Institut Pasteur à Paris.

##### **Bactériologiques**

*E Corradi, A Bourdier*

Malgré l'utilisation des milieux de culture basés sur du sang frais de cheval (collaboration avec l'Escadron Mixte de la Gendarmerie de Fort Duchesne d'Antananarivo en 2008) aucun isolement n'a été obtenu. En mars 2009, nous avons décidé d'envoyer à J Raymond de l'Hôpital Cochin toutes les biopsies congelées pour faire l'isolement et pour continuer l'étude. Elle a pu isoler 28 souches d'*Hp* et il semble que ce soit des souches Afri-

caines sans composant Maori, reflet de la migration Austronésienne. L'étude génétique n'est pas finie.

#### **Discussion et perspectives**

L'examen anatomopathologique a donné des résultats fiables et contrôlés par le Dr M Huerre de l'IPP. Malgré le nombre insuffisant des malades, nos résultats anatomopathologiques permettent de donner un aperçu sur l'affection gastroduodénale liée à l'*Hp* à Madagascar.

Par contre, l'examen bactériologique n'est pas satisfaisant. Le nombre de patients prévus à l'étude et le nombre de souches requises n'a pas été atteint. Le Clinicien chargé de nous envoyer des prélèvements est souvent en mission à l'extérieur et il y a des moments où nous ne recevons aucun prélèvement pendant quelques mois.

Pour les années à venir, notre projet est de faire une étude sur le typage de HPV circulant à Madagascar.

#### **4- Assurance qualité**

Les procédures et les modes opératoires du laboratoire d'anatomie pathologique ont été rédigés avec l'aide du Responsable qualité et du Correspondant qualité. Le rangement, l'organisation des archives, le respect des règles d'hygiène du complément de la rédaction des procédures et des modes opératoires, le respect de la démarche qualité sont supervisés par le médecin responsable du LACP.

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

- **M Gouali** : chef de service
- **N Ravaonindrina** : adjoint au chef de service (responsable technique)
- **F Razafindralambo** : surveillante du laboratoire
- **L Raharinivo** : responsable qualité
- **BA Rafanomezantsoa** : correspondant qualité
- **V Ramiandrasoa** : conseillère qualité en entreprises

Pour le LHAE, l'année 2009 aura été d'une part une année consacrée à la qualité puisque le Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement est désormais accrédité COFRAC pour l'ensemble de ses activités (programme 59 depuis le 1<sup>er</sup> juillet 2007, et programme 100.2 depuis le 15 mars 2009) et d'autre part à la restructuration de l'équipe du laboratoire avec le recrutement de 4 nouveaux techniciens suite à la réaffectation de trois techniciens dans d'autres services de l'IPM.

Par ailleurs, Mme Lanto Raharinivo qui occupait le poste d'adjointe au responsable qualité a été nommée le 1<sup>er</sup> novembre 2009, responsable qualité du laboratoire suite à l'obtention de son Master II en qualité et gestion des risques en santé. Cette nomination permet ainsi de pérenniser et d'améliorer en continu le système de management de la qualité mis en place au laboratoire depuis 2004.

## ACTIVITÉS DE SERVICE

Malgré les actions de marketing menées par le laboratoire pour promouvoir ses activités, celles-ci continuent de baisser. C'est ainsi que l'on enregistre un total de 9 705 échantillons analysés en 2009 contre 13 772 en 2008, soit une baisse de 30%.

Cette baisse significative de l'activité technique du laboratoire se répartit comme suit en fonction des catégories d'échantillons :

- PDM : - 40% (4 127 échantillons analysés)
- Eaux : - 14% (3 549 échantillons analysés)
- Divers : - 25%

### 1- Analyses des eaux et des aliments

#### • Produits de la mer (PDM)

Les produits de la mer ne représentent plus que 43% de l'activité globale du laboratoire. Cette diminution est en partie due aux problèmes que rencontre la filière halieutique à Madagascar aussi bien au niveau de la pêche que de l'élevage.

La révision des plans d'échantillonnages par l'ASH (Autorité Sanitaire Halieutique) pour les contrôles officiels ainsi que des paramètres microbiologiques à contrôler est également responsable de la baisse du nombre d'analyses.

Ces produits restent globalement de qualité bactériologique satisfaisante puisque seulement 2% d'échantillons sont non conformes.

#### • Produits divers

La qualité microbiologique des produits agro-alimentaires autres que les produits de la mer et les produits laitiers est, quant à elle, loin d'être satisfaisante et ce, quelle que soit la catégorie de produit.

Les pourcentages d'échantillons non conformes se répartissent comme suit :

- Produits carnés : 36% contre 31% en 2008
- Produits laitiers et dérivés : 4 % contre 36% en 2008
- Plats cuisinés : 38% contre 27% en 2008
- Conserves : 10% contre 3% en 2008
- Autres : 18% contre 16% en 2008

Ces résultats non satisfaisants s'expliquent par le fait que les clients du laboratoire ont énormément de difficultés à avoir des fournisseurs de matières premières de qualité. Ils ne peuvent obtenir de ces derniers un respect des cahiers des charges (problèmes les plus fréquemment rencontrés : respect de la chaîne de froid lors du transport des matières premières, obligation d'avoir des DLC et des DLUO sur les produits)

Par ailleurs, l'absence totale de réglementation concernant la sécurité sanitaire des aliments destinés à la consommation locale fait que les clients ne sont pas sensibilisés aux problèmes d'hygiène.

## • Eaux

### - Eaux d'adduction

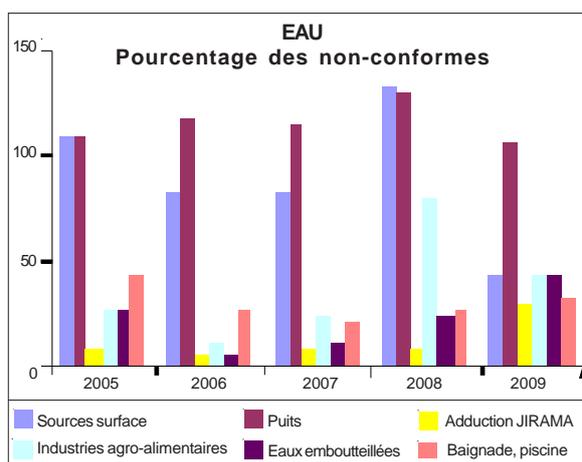
Distribuée dans la capitale et les principales villes du pays par la JIRAMA, société d'exploitation industrielle de l'eau et de l'électricité, la qualité microbiologique de l'eau s'est dégradée en 2009 puisque 23% des échantillons d'eaux analysés ont été classés non potables contre seulement 5,6 % en 2008. Il est important de noter que c'est à Antananarivo que le pourcentage d'échantillons non potables est le plus important.

### - Eaux de baignade

Ces analyses concernent les eaux de piscines de la zone urbaine et suburbaine d'Antananarivo (hôtels et centres de loisirs). La qualité de ces eaux s'est également dégradée.

### - Eaux brutes non traitées

Celles-ci constituent un problème de santé publique à Madagascar, sont souvent consommées par la population et sont fortement contaminées par une flore souvent d'origine fécale.



## 2- Sérotypage des salmonelles

### • Le sérotypage des souches dans le cadre des activités

Dans le cadre des activités du laboratoire (Centre National de Référence des Salmonelles, Shigelles et Vibrio), le Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement assure le sérotypage des souches de salmonelles.

Les sérovars, le nombre de souches et leur origine figurent dans le tableau ci-dessous.

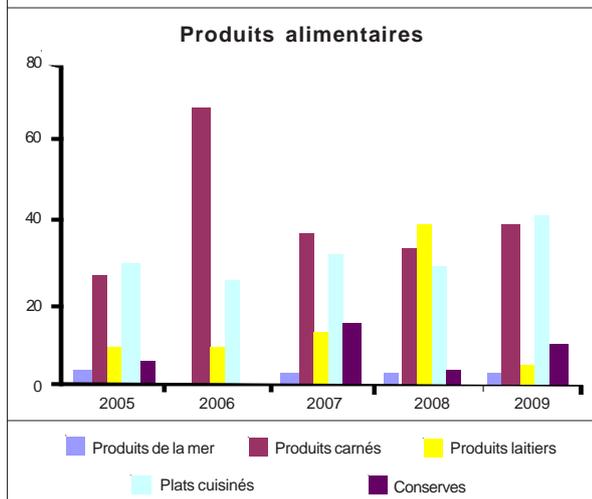
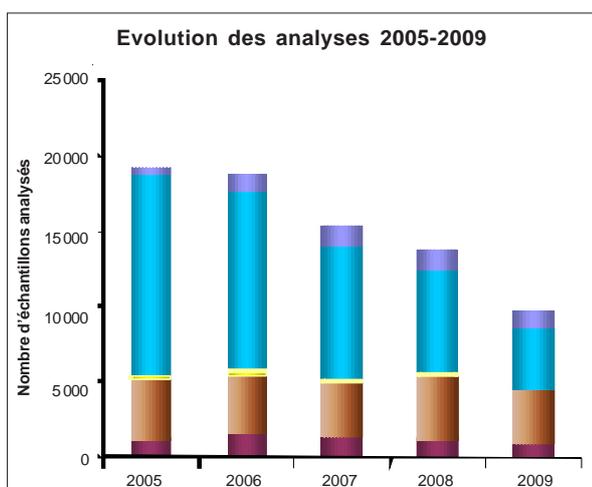
Tableau V : Sérotypes et origines de Salmonella isolées en 2009

Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement			Centre de biologie clinique		
Sérovars	Nb cas	Aliments incriminés	Sérovars	Nb cas	Sources
Hivittingfoss	4	Crevettes - crabes - poissons	Enteritidis	6	coproculture
Enteritidis	2	Chair de crabes - poulet	Enteritidis	2	hémoculture
Bukavu	2	Crevettes	Give	3	coproculture
Glostrup	2	Poulpes	Anatum	2	coproculture
Albany	1	Viande	Hadar	2	coproculture
Anatum	1	Poulet	Hayindogo	2	coproculture
Bardo	1	Crevettes	Sandiego	2	coproculture
Give	1	Charcuterie	Typhi	1	coproculture
Indiana	1	Viande	Agona	1	coproculture
Kiel	1	Poulpes	Durban	1	ECBU
			Hato	1	coproculture
			Holcomb	1	coproculture
			Kapemba	1	coproculture
			Kisangi	1	coproculture
			Stratford	1	coproculture
			Typhimurium	1	liquide d'ascite
			Virchow	1	coproculture

Ces résultats sont enregistrés dans la base de données du GSS / OMS

### • Production des milieux de culture

Le laboratoire dispose d'une unité de production des milieux de culture qui assure la production des besoins du laboratoire ainsi que de trois autres laboratoires de l'IPM. Il s'agit du Centre de Biologie Clinique (CBC), du laboratoire de la peste et du laboratoire d'épidémiologie-surveillance des maladies des crevettes (LES).



Depuis deux ans, cette unité ne cesse de voir augmenter ses activités du fait de l'augmentation du nombre de projets. A titre d'exemple, rien que pour le CBC, le coût de la production des milieux de culture fabriqués en 2009 est estimé à 60 000 euros.

#### ACTIVITÉS D'EXPERTISES

Deux cas de toxi-infections alimentaires ont été investigués au LHAE en 2009 :

- Toxi-infection alimentaire affectant les ouvriers d'une société d'exploitation pétrolière à Bemolanga après consommation de repas servis par la cantine sur place (petit déjeuner et déjeuner du 23/10/09, déjeuner et dîner du 24/10/09), les signes cliniques apparaissent le 24/10/09 au soir à type de diarrhées sanguinolentes sans fièvre et sans vomissement mais accompagnés de nausées.

L'analyse microbiologique des plats témoins ne permet pas d'identifier de germe pathogène.

- Toxi-infection affectant 75 personnes ayant assisté à un repas de mariage à Ambohimangakely le 19/12/09, suite à l'ingestion d'une entrée à base de mayonnaise. Les signes cliniques sont : vomissements, diarrhée, vertiges et hyperthermie, l'analyse de l'échantillon du repas incriminé a permis d'isoler une souche de *Salmonella Enteritidis*.

#### DÉVELOPPEMENT ET VALIDATION DE MÉTHODES

En mai 2009, le laboratoire a commencé à isoler de nombreuses souches de *Vibrio parahaemolyticus* dans les produits de la mer alors que le nombre de souches isolées était très faible depuis 2005.

L'application d'une méthode expérimentale ISO pour la recherche de ce pathogène potentiel s'est vite révélée fastidieuse du fait de la lourdeur de la méthode et des nombreux tests d'identification biochimiques donnant le plus souvent des résultats ininterprétables voire contradictoires.

Le laboratoire a mis au point une nouvelle méthode plus sensible de détection de *Vibrio parahaemolyticus* basée sur l'utilisation d'une gélose chromogène. Les résultats de deux études comparatives menées au laboratoire sont très intéressants et sont en cours de rédaction en vue de leur publication. De plus, sur les 200 souches isolées entre mai et décembre 2009, des souches pathogènes positives en facteurs de pathogénicité (tdh et trh) dont la recherche est effectuée au laboratoire d'Epidémiologie-surveillance des maladies de la crevette (LES) ont été isolées et confirmées au Centre National de Référence des *Vibrio* et du Choléra à l'Institut Pasteur à Paris.

Par ailleurs, dans le domaine des eaux, le laboratoire a mis en place deux techniques miniaturisées de recherche et de dénombrement des *Escherichia coli* et des Entérocoques intestinaux dans les eaux fortement chargées en microorganismes permettant ainsi d'abandonner les méthodes par NPP lourdes et fastidieuses.

Le laboratoire a commencé fin 2009 à mettre en place la technique de recherche et de dénombrement des légionnelles dans les eaux, analyse demandée par des groupes hôteliers de l'Océan Indien. La mise en place de cette technique est prévue pour le 1<sup>er</sup> trimestre 2010 et permettra de diversifier les activités du laboratoire et de répondre à un marché important dans la région.

# 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

1 474 vaccinations anti-mariques donnant suite à la délivrance d'un certificat de vaccination internationale ont été réalisées (VACCIN AMARIL STABILILSE) (-0,33% par rapport à l'année précédente).

## 2- Autres vaccins

10 790 doses de vaccins de différentes natures ont été administrées (-3,05% par rapport à l'année précédente). Par ailleurs, 673 IDR à la tuberculine ont été pratiqués.

Tableau I : Nombre des différents vaccins administrés

Nature du Vaccin	Nombre de vaccinations	Pourcentage
Act Hib	103	0,95
Avaxim	390	3,61
Typhim Vi	802	7,43
Infanrix Hexa	226	2,09
Varilrix	39	0,36
Euvax B Pédiatrique	530	4,91
Meningo A+C	368	3,41
Euvax B Adulte	1412	13,09
Pentaxim	440	4,08
Pneumo 23	382	3,54
ROR	1185	10,98
Tetavax	166	1,54
Verorab	211	1,96
Dultavax	1788	16,57
Vaxigrip	2748	25,47

# Centre de Traitement Antirabique

**W Rakotomalala, M Ratsitorahina**

## Données d'analyse du fichier du centre antirabique de l'IPM, année 2009

### Données patients

Durant l'année 2009, 3 829 nouveaux consultants (prise en charge initiale) ont été enregistrés dans le fichier du centre antirabique de l'IPM, 77 personnes sont venues pour une reprise de traitement après abandon et 32 pour poursuite de traitement après transfert d'un autre centre antirabique.

L'année 2009 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.

Une analyse descriptive a été réalisée sur les 3 829 nouveaux consultants enregistrés.

Le sex-ratio H/F est de 1,27/1, l'âge moyen des patients de 24,8 ans avec un âge médian égal à 20 ans et des extrêmes de 1 an (15 jours) et 91 ans.

La majorité des patients habitaient dans le Grand Tana (Antananarivo Renivohitra, Atsimondrano, Avaradrano et Ambohidratrimo) ils représentaient 93,47% des patients exposés (3 579/ 3 829).

Parmi eux, 2177 (53,2%) venaient d'Antananarivo Renivohitra, 610 (16,1%) d'Antananarivo Atsimondrano, 391 (12,1%) d'Antananarivo Avaradrano, et 401 (9,6%)

d'Ambohidratrimo. Les lieux d'exposition de la victime ne différaient que très exceptionnellement de leur arrondissement de résidence.

97,7% (3 847/ 3 829) ont été traité par le vaccin sur culture cellulaire Vero «Verorab®» selon le protocole Thaïlandais et 17 (0,4%) selon le protocole préconisé par l'OMS (injection intramusculaire). La mise en œuvre initiale du traitement avec une sérothérapie a été réalisée chez 464 sujets soit dans 11,8% des cas (464/ 3 829).

Dans 1,9% des cas (74/ 3 829), les conclusions de la consultation n'ont pas justifié la mise en œuvre du traitement antirabique.

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, 2009)

Sérothérapie	Vaccin sur Culture cellulaire		Patients non traités	Total patients traités
	Thaïlandais	OMS		
OUI	464	0	0	464
NON	3 474	17	74	3 847
<b>Total</b>	<b>3 938</b>	<b>17</b>	<b>74</b>	<b>4 037</b>

### **Données animales**

Le chien est nettement prédominant et représente 91,5% (3 694/4 037) des espèces animales connues responsables de l'exposition. Les autres principales espèces animales sont par ordre décroissant le chat dans 5,8% des cas, le rat dans 1,3% des cas, le lémurien dans 0,9% des cas.

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

### **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, seront intéressantes pour améliorer la lutte contre la rage à Madagascar en général.

La participation des sujets exposés, des propriétaires d'animaux domestiques et la participation active des commissariats de police et de la gendarmerie nationale pour observer le devenir de l'animal mordeur pendant les 10 jours après l'exposition sera bénéfique pour les

personnes mordues et les centres de vaccination.

La mise en place des 21 centres de vaccination en dehors de l'IPM au cours de l'année 2008, nécessite suivis et évaluations de leurs fonctionnements.

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

Tableau II : Répartition des caractéristiques des principales espèces animales selon les caractéristiques décrites lors de la consultation initiale

Caractéristique de l'animal	Chien	Chat	Lémurien	Autres	Total
Errant disparu	781	37	13	72	903
Errant vivant (propriétaire inconnu)	75	8	1	0	84
Domestique (propriétaire connu)	2 711	137	21	1	2 870
Domestique disparu	17	33	0	0	50
Domestique abattu	54	8	1	0	63
Domestique mort "de maladie"	56	11	0	0	67
<b>Total</b>	<b>3 694</b>	<b>234</b>	<b>36</b>	<b>73*</b>	<b>4 037</b>

(\*) – 73 patients sont exposés à des espèces autres que le chien, chat ou lémurien.

# Laboratoire Central de la Peste

## Unité de production de bandelette

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

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

**IPP :** F Nato, S Dartevelle, Y Germani

**OMS :** E Bertherat

**Sources de Financement :** Appui au fonctionnement du Laboratoire Central de la Peste, Ministère de la Santé et du Planning Familial malgache, OMS TSA.

Les programmes de recherches sur les tests de diagnostic rapide par immuno-chromatographie (bandelettes) à l'Unité Peste ont permis la mise en place en son sein d'une Unité de Production de ces tests ce depuis 2001. Cette unité est tenue par un ingénieur ayant un profil de scientifique (depuis octobre 2005) qui travaille avec un technicien. Des activités de production de bandelettes peste y ont été menées en 2009. En effet, après la phase de développement et d'évaluation pour une utilisation en santé publique des bandelettes de détection de l'antigène F1 Peste, l'IPM est autorisé à en produire pour les besoins de Madagascar et à des fins de recherche, bien que la licence ait été achetée par une firme indienne. Les tests sont fournis avec des kits de prélèvement et transport pour garantir leur bonne utilisation.

En 2009, 7 000 bandelettes de détection d'antigène F1 ont été produites afin d'assurer un stock permanent pour :

- le diagnostic de routine de la peste au Laboratoire Central de la Peste (LCP) du Ministère de la santé à Madagascar
- le diagnostic au chevet du malade au niveau des Centres de Santé de Base (CSB) foyers de peste à Madagascar
- les demandes internationales
- les activités de recherches

Le tableau I reprend la production - diffusion - consommation de bandelettes antigène F1 peste sur 5 ans.

Tableau I : **Production - diffusion - consommation de bandelettes antigène F1 peste, kits de prélèvement, malettes, guides et affiches**

	2005	2006	2007	2008	2009
<b>Production bandelettes</b>	4000	4300	4400	4000	7000
<b>Diffusion/Consommation bandelettes Madagascar</b>	1366	1604	1461	1278	899
<b>Diffusion/Consommation bandelettes extérieur</b>	800	605	1170	140	260
<b>Consommation bandelettes LCP</b>	930	2682	3029	3227	4692
<b>Kit de prélèvement / transport distribués</b>	1734	1896	2244	1216	826
<b>Malettes dotées (Madagascar)</b>	8	62	1	0	0
<b>Guides dotés</b>	37	65	2	13	29
<b>Affiches dotées</b>	18	63	12	12	3

### Conclusions 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 dédou-

blement des appareils, système de montage) ainsi qu'une formation complémentaire sur l'assurance qualité de la chaîne de production des tests a été initiée et serait à poursuivre. L'Unité de production qui est destinée à s'orienter vers le développement de tests pour d'autres pathologies ne pourra que tirer profit de toutes ces améliorations.

---

---

# **ACTIVITES DE FORMATION**

---

---

---

---

# ACTIVITES DE FORMATION

---

---

## **Considérations générales**

*Les activités de formation représentent l'une des quatre missions traditionnelles des Instituts Pasteur du Réseau International. L'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) est fidèle à cette mission et ses scientifiques sont très souvent sollicités.*

*A Madagascar, la formation concerne la formation continue du personnel de l'Institut et également l'enseignement et l'accueil en stages de personnes extérieures.*

*L'IPM participe à deux enseignements majeurs à Madagascar : l'internat qualifiant en biologie médicale, et la formation des techniciens de laboratoire pour laquelle il a été désigné maître d'œuvre par le Ministère de la Santé et du Planning 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.*

*Un effort tout particulier a été fait ces dernières années pour promouvoir la formation continue du personnel et pour favoriser les thèses en cotutelles entre l'Université d'Antananarivo et une université française. Une ligne budgétaire spécifique a été créée pour cela.*

# Formations

## 1- Formation reçue par les agents de l'IPM

### 1.1 A Madagascar

- **Razanadrasoa F, Razanaharinivo M** : Formation continue en technique d'Anatomopathologie. Faculté de Médecine, Antananarivo (19-30 janvier).

- **Personnel cadres et stagiaires de l'IPM** : Initiation au logiciel End Note. IPM, Antananarivo (23 février à 5 mai).

- **Razafindrambola H** : Atelier de formation sur les systèmes d'information. AUF, Antananarivo (30 mars au 3 avril).

- **Ramarokoto H** : Atelier de formation sur la supervision. Antananarivo (8 avril).

- **Ramarokoto H** : Atelier "Habilitation à manipuler dans le laboratoire NSB3". IPM, Antananarivo (24 avril).

- **Raveloarilalao A, Razafinandrasana C** : Cours sur la Surveillance des Salmonelles et des infections bactériennes d'origine alimentaire. IPM, Antananarivo (27 avril au 1<sup>er</sup> mai).

- **Masse-Navette P, Ramaherison HL, Ramanantsoa E, Ramparany L, Randrianirina F, Rasoamalala L, Rasolonalona T, Ratsima E, Talarmin A, Teillet C** : La norme NF en ISO 15189 : 2007. IPM, Antananarivo (9-11 juin).

- **Vololonirina EJ, Rakotoarivo AT** : Formation pratique "Test moléculaire génotype MDRTB-Plus (HAIN)". Antananarivo (20-25 août).

- **Raharimanana C, Andrianaivoarimanana V** : Formation sur les "Etats standards et personnalisés GESCOM". IPM, Antananarivo (24 septembre).

- **Vololonirina EJ** : Bases d'acceptation et traitement des marchandises dangereuses. Antananarivo (5-9 octobre).

- **Rafisandratantsoa JT, Rabemanantsoa S, Andriamamonjy SN** : Formation Excel niveau de base. IPM, Antananarivo (15-16 octobre).

- **Andriamandimby SF, Razanajatovo NH, Ratovohasina**

**A, Randriamanantena AH** : Formation Excel niveau avancé. IPM, Antananarivo (17 octobre).

- **Rasolonalona T, Ramanantsoa E, Andriatsarafara B** : Perfectionnement en métrologie : estimation des incertitudes d'étalonnage et de mesure, auto-évaluation en métrologie. IPM, Antananarivo (25, 30 novembre et 1<sup>er</sup> décembre).

- **Ramparany L, Rasolonalona T, Ratsima E, Razafindralambo F, Teillet C** : Estimation des incertitudes et validation des méthodes en biologie médicale. IPM, Antananarivo (26-27 novembre).

- **Personnel de l'Unité Immunologie** : Mutualisation de données sur Endnote. IPM, Antananarivo (27 novembre).

### 1.2 A l'extérieur de Madagascar

- **Randrianirina F** : Cours de bactériologie médicale. Institut Pasteur à Paris (14 février au 12 avril).

- **Ratsitorahina M** : Cours de création et de gestion de bases de données sur Microsoft Access et Epidata. Institut Pasteur à Paris (16-20 février).

- **Razafindratsimandresy R** : Formation de virologie en biologie des virus entériques. Institut Pasteur à Paris (1<sup>er</sup>-27 mars).

- **Raharisolo C** : Stage au laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques pour l'obtention de l'AFSA. Hôpital St Antoine, France (1<sup>er</sup> mai au 30 octobre).

- **Rasolofo V** : Cours "Génétique humaine et maladies infectieuses". Ecole Pasteurienne d'infectiologie. Institut Pasteur, Paris (25-29 mai).

- **Carod JF** : Formation AFNOR ISO 15189. Paris (5-7 octobre).

- **Andriamandimby SF, Razanajatovo NH** : Formation sur les techniques d'inoculation grippe (Influenza training on Cell Culture/Egg Inoculation. Kenya (10-14 août).

- **Rasolofo V** : Formation "Pratique sur la cytométrie de flux" Kilimandjaro christian Medical Centre, Moshi tanzanie (30 août - 1<sup>er</sup> septembre).

- **Tantely LM.** Identification moléculaire des moustiques dans le cadre du projet RIFT-OI. Montpellier, France (septembre).

- **Rakotosamimanana N :** (étudiant Doctorat 3<sup>ème</sup> Cycle). Stage sur "Etude fonctionnelle d'un îlot génomique non polymorphe de *Mycobacterium tuberculosis* " pour thèse de Sciences en cotutelle. Unité de Génétique Mycobactérienne, Institut Pasteur, Paris, (mars à octobre).

- **Razanajatovo NH, Andriamandimby SF :** Atelier de formation "Culture cellulaire et isolement viral sur œufs embryonnés". Kemri-CDC, Nairobi, Kenya (10-14 aout).

- **Elissa N.** Atelier repas de sang (PCR, ELISA). Casablanca, Maroc (septembre-octobre).

- **Andriamamonjy NS :** Atelier de formation "Diagnostic moléculaire par RT-PCR en temps réel de la Polio". NICD, Afrique du Sud (2-13 novembre).

- **Randrianirina F :** Cours "Expertise technique au laboratoire en santé humaine". INTS, Tours-France (9-20 novembre).

## 2- Formations ou stages en cours à l'IPM

### 2.1 Thèses de sciences

- **Andriamanantena T :** CBC. *Etude de mécanisme de résistance à l'Imipénème des souches d'Acinetobacter baumannii isolées à Antananarivo.* Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Andrianaivoarimanana V.** Cours Interactions des micro-organismes avec leur environnement" - Relations Hôtes-virus et agents non conventionnels. Unité d'Enseignements Scientifiques à l'Université de Versailles Saint-Quentin (octobre - décembre). Organisateur : Université de Versailles Saint-Quentin; Financement : BourseDAI/IPM.

- **Kreppel K :** Thèse de Doctorat. Unité Peste. *The influence of climate on the epidemiology of plague in Madagascar.* Université de Liverpool.

- **Raharilantsoa Y :** Thèse de Doctorat. Unité Peste. *Etude de la dynamique spatiotemporelle des espaces à risque pesteux dans le Vakinankaratra, hautes terres centrales de Madagascar.* Faculté des Lettres, Département de Géographie, Université d'Antananarivo.

- **Rahelinirina S :** Thèse de Biologie Animale. 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.

- **Rakotomanana F :** Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Unité Epidémiologie. *Apport d'un Système d'Information Géographique et de la télédétection dans la prévention du risque de survenue d'épidémie de paludisme sur les Hautes Terres Centrales de Madagascar.* Université Paris-Est, Marne-La-Vallée.

- **Rakotosamimanana N :** Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Unité des Mycobactéries. *Diversité génétique des souches M tuberculosis et virulente.* Thèse en cotutelle de l'Université d'Antananarivo et de l'Université de Paris 6.

- **Ravaoarisoa E :** Thèse de Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Unité Paludisme. *Mise au point de nouveaux outils pour le diagnostic biologique du paludisme.* Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Razakandrainibe R :** Thèse de Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Unité Paludisme. *Etude des empreintes sérologiques au cours de l'infection palustre.* Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Said Tohir AHO :** Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Unité des Mycobactéries. *Outils diagnostiques de la tuberculose.* Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Tantely ML :** Préparation Ph D. Unité d'Entomologie médicale. Biologie des moustiques vecteurs potentiels du virus de la fièvre de la vallée de rift a Madagascar. Département d'Entomologie, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

### 2.2 Doctorat en médecine humaine et vétérinaire

- **Andrianantenaina RH :** Centre de Biologie Clinique. *Clinical, biological and imaging patterns of neurocysticercosis in Madagascar.* Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Ramahefarisoa RM.** Centre de Biologie Clinique. *Developing and evaluating tools for the diagnosis of Porcine Cysticercosis.* Faculté de Médecine vétérinaire, Université d'Antananarivo.

- **Ratsimbazafy N :** Laboratoire d'Epidémiologie-Surveillance. *La détection des Vibrios par hybridation*

*/in situ* // (dans les tissus de crevettes). Faculté de Médecine vétérinaire, Université d'Antananarivo.

### 2.3 DEA

- **Andrianaranjaka VH** : Unité Paludisme. *Estimation du nombre de copies du gène mdr chez Plasmodium vivax : mise au point de la technique et corrélation avec les données in vivo*. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

- **Rasoahanitralisoa R** : Unité des Mycobactéries. *Génotypage de M. tuberculosis avec les marqueurs MIRU-VNTR*. Faculté des Sciences, Université Antananarivo.

### 2.4 DES

- **Ratovoson R** : Unité Epidémiologie. *Méthodes et pratiques en épidémiologie option VIH/SIDA*. Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo.

- **Ratsitoharana R** : Unité de Virologie (CNR Grippe). *Mise au point de la détection des virus grippaux à partir de dépôt sur buvard*. INSA de Toulouse, France.

### 2.5 Stages techniques et professionnels

- **Razafimahefa M** : Unité des Mycobactéries. *Stage de mycobactériologie*. CHU Androva-Mahajanga. Ministère de la Santé Publique, Madagascar.

# Enseignements

Les 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/>)

Participants IPM : *Randrianarivejosia M, Rakotomalala S*  
Collaboration extérieure : *Ministère de la Santé et du Planning Familial - Académie Nationale des Arts, des Lettres et des Sciences*

### Financement :

Réseau International des Instituts Pasteur  
Groupe Sanofi-Aventis  
Agence Universitaire de la Francophonie  
Consulat Général du Pakistan à Madagascar  
Institut Pasteur de Madagascar

Le cours international "Atelier Paludisme" 7<sup>ème</sup> session, organisé par l'Institut Pasteur de Madagascar, en collaboration avec la Vice Primature chargée de la Santé Publique malagasy et les partenaires financiers, s'inscrit dans la mission de formation du Réseau International des Instituts Pasteur. Ce programme de formation francophone basé principalement sur l'Apprentissage Par Problème offre une plateforme appropriée pour mieux partager les connaissances et les bases factuelles aux futurs experts nationaux et internationaux notamment dans le but de produire un impact positif sur la lutte contre le paludisme.

Il a réuni des apprenants autour du paludisme sur les thèmes de la santé publique et de la recherche.

Durant six semaines (7 mars au 17 avril) de formation, les apprenants ont eu à préparer eux-mêmes leurs conférences sur des sujets des plus généraux aux plus spécialisées pour approfondir leurs connaissances. Ils ont été assistés par des facilitateurs venus de l'étranger, des chercheurs réputés, qui leur ont fait partager leurs expériences et leur savoir-faire. Toute la formation est basée sur l'Apprentissage par Problème qui consiste à mettre les apprenants en situation. Plutôt que de donner les informations dans des cours magistraux. Les apprenants sont mis dans un processus actif de recherche d'informations qu'ils doivent collecter, comprendre, synthétiser, reformuler pour correspondre au thème qui leur a été imposé, et enfin soutenir devant un jury.

Dans une perspective à long terme, ce principe de formation permet aux bénéficiaires d'acquérir un outil d'autoformation renforcé par un esprit critique incul-

qué par les facilitateurs. En cela, le rôle des facilitateurs est capital pour transférer aux apprenants les bases fondamentales de la recherche et de la lutte contre le paludisme, et comprendre les grands mouvements stratégiques qui rallient ou opposent les spécialistes.

L'objectif principal du cours est de renforcer les compétences au bénéfice des chercheurs et des personnels de santé impliqués dans la lutte contre le paludisme. Seize apprenants étaient sélectionnés. La priorité a été donnée aux candidats qui exercent des fonctions ou qui exerceront des fonctions, les impliquant dans les programmes de recherche ou de lutte contre le paludisme. La sélection des candidats vise également à diversifier les pays d'origine et les disciplines.

La formation est basée sur l'Apprentissage Par Problème. Les apprenants sont engagés dans une recherche active d'information pour préparer une présentation qui sera jugée par un jury. Ils sont encadrés par des facilitateurs spécialistes dans différentes disciplines liées au paludisme, et qui viennent de différents pays. La formation a duré 6 semaines (7 mars au 15 avril 2009).

## 2- Internat Qualifiant en Biologie Médicale

Organisateur : *Faculté de Médecine,  
Université d'Antananarivo*  
Coordination : *JF Carod*  
Financement : *Faculté de Médecine,  
Université d'Antananarivo*

4 internes en médecine suivent à tour de rôle une formation dans les disciplines pratiquées au CBC 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, Université d'Antananarivo pour des périodes allant de 2 à 4 mois selon la spécialité.

Sur le plan pratique, un biologiste est systématiquement présent à la paillasse et contribue ainsi directement à la formation pratique des internes.

### 3- Formation des techniciens du CBC : staffs du vendredi

Organisateur / Coordination : JF Carod  
Financement : IPM

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 sont réalisés par les internes en biologie médicale pour les techniciens à raison d'une séance toutes les semaines.

Il est demandé la présence d'au moins un technicien de laboratoire par secteur, comme pour les secrétaires et tous les biologistes doivent être présents.

Une évaluation des staffs a été réalisée en mai, les résultats sont satisfaisants et il a été décidé de conserver le même principe pour les prochains staffs en changeant le jour et l'heure.

Thèmes abordés :

- **Dr Koloïna.** LCR et méningites : les réflexes à avoir et les bonnes pratiques (20 février).
- **Dr Henintsoa.** Influence du préanalytique en biochimie (27 février).
- **Dr Mbola.** Influence du préanalytique en hémostase (6 mars).
- **Dr Koloïna.** Analyse des germes anaérobies en routine (13 mars).
- **Dr Mbola.** Immuno-hématologie : difficultés de groupages (20 mars).
- **Dr Koloïna.** Analyse bactériologique du sperme : difficultés d'interprétations et conduites à tenir (27 mars).
- **Dr Anjatiana.** Diabète gestationnel : du dosage de la glycémie et de ses interférences, aux recommandations les plus récentes dans son approche diagnostique (17 avril).
- **Dr Anjatiana.** Influence du préanalytique en biochimie (30 avril).
- **Dr Hery.** Préanalytique en bactériologie : à travers une multitude de situations (8 mai).
- **Dr Anjatiana.** Calcium, magnésium dans les troubles neurologiques du préanalytique au postanalytique : ces analyses ont-elles vraiment un intérêt dans cette indication ? (22 mai).
- **Dr Hery.** Isolement et identification des principales corynébactéries rencontrées en pathologie médicale (29 mai).
- **Dr Anjatiana.** Préanalytique en hématologie cytologique (9 juillet).
- **Dr Jocia.**  $\beta$ -HCG : présentation brève et signification

clinique de l'HCG et de ses fractions, préana, ana avec le piège des grossesses molaires (16 juillet).

- **Dr Anjatiana.** Test de correction du TCA : principe, pré-analytique et interprétation (30 juillet).
- **Dr Jocia.** Préanalytique en biochimie urinaire (7 août).
- **Dr Anjatiana.** Et si on reparlait des marqueurs des hépatites : du préana, ana et la signification analytique (14 août).
- **Dr Jocia.** Intérêt et utilisation des CQI en sérologie/biochimie et traitement des CQI HN (21 août).
- **Dr Anjatiana.** Biochimie/hématologie (28 août).

### 4- Cours régional de la Zone Océan Indien (ex-cours URSID)

Le cours a été organisé par le CBC sur proposition et avec le soutien de la COI. Il s'est adressé en priorité aux techniciens supérieurs de laboratoire ou médecin et pharmaciens biologistes des Etats membres de la Commission de l'Océan Indien, 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 7 stagiaires de 5 à 16 octobre (10 jours ouvrables d'enseignement). La formation a associé des intervenants de l'Unité des Mycobactéries et de Virologie.

### 5- Rencontres Clinico-Biologiques

Organisateurs : IPM, Confrères de Madagascar  
Coordination : JF Carod, E Andrianasolo  
Financement : Confrères de Madagascar

A l'initiative de l'Institut Pasteur de Madagascar et en collaboration avec "Confrères de Madagascar", des conférences ou rencontres cliniques 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.

Améliorer le diagnostic, éviter les demandes d'analyses aberrantes/injustifiées et les traitements mal ap-

propriés 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***

- Mai : **PSA et pathologies prostatiques**

clinicien : *Pr Rantomalala Yoël*

biologiste : *Dr Tantelinirimirana Hoby*

- Juillet : **Le diagnostic des infections respiratoires basses**

biologistes : *Dr Ratsima Elisoa*

*Dr Andrianasolo Daniel*

*Dr Razafimbelo Miary Josée*

- Août : **ECBU**

cliniciens : *Pr Randria Mamy*

biologistes : *Dr Ravaoalimalala Vololomboahangy*

*Dr Ramparany Lova.*

## 1- Gestion documentaire

*Razafindrambola H*

Les quelques nouveautés au sein du Centre de Documentation en 2009 :

- L'accès à internet des produits de l'édition électronique sur le site de l'IPM, de l'OMS ou autres dans le domaine de la santé, environnement, Agricultures.

Le Centre de documentation assiste les utilisateurs dans ses recherches et les orientent selon leurs expressions des besoins. Un poste en plus du poste de travail du responsable est destiné aux consultations des Bases de données, d'accès à internet pour les utilisateurs extérieurs.

- L'accès aux ressources électroniques de la Médiathèque scientifique, Biolib un portail réservé aux membres de l'Institut Pasteur de Paris et du réseau International (RIIP). Avec un accès contrôlé à tous membres.

Ce Biolib permet d'accéder à distance aux banques de données de la médiathèque et de faire les commandes des fournitures de documents en ligne.

- La révision du processus du mode opératoire des achats des documentations techniques (Normes - Documents du systèmes qualités) qui fait l'objet de personnalisation pour chaque unité.

- La participation du responsable du Centre de Documentation à l'appui et orientation des scientifiques aux recherches d'informations en ligne, durant l'atelier URSIDA 2008.

### Fonds documentaires

Ouvrages : 3 744

Tirés à part : 2 592

Thèses / Mémoires : 3 620

Titres de périodiques : 9 en abonnement, 8 en dons et échanges

Cartes routière : 173

### Services aux utilisateurs

#### *Extérieurs*

254 consultants issus de la faculté de médecine, des sciences, de l'Agronomie, des Ecoles vétérinaires, ...)

246 documents en supports papier consultés réparti par type de documents.

Les consultants préfèrent les documents virtuels, d'où le nombre de la consultation revient à 260 et qui s'étend aux différents thèmes de recherche dans le domaine des sciences naturelles, médicales, vétérinaires, agronomies...

#### *Intérieurs*

Recherches d'informations

Comme presque les services et unités sont dotés d'internet, les recherches bibliographiques se font rares. Par contre les commandes de fournitures, de documents provenant des recherches effectuées au sein de chaque service/unité augmentent.

#### **Sites**

L'intranet devient un moyen de communication incontournable au sein de l'IPM en plus de l'outil de messagerie. Le site évolue petit à petit.

Perspective d'avenir : mise en place d'un portail documentaire

#### **Visioconférences**

L'Institut Pasteur de Madagascar dispose actuellement un outil de visioconférence le TANDBERG 3000, grâce à la DAI.

Les scientifiques de l'IPM ont pu participer aux séries de visioconférences dans le domaine de la santé organisées par l'Agence Universitaire de la Francophonie, en partenariat avec le comité pour la coopération scientifique et technique avec le Vietnam (CCSTVN) et l'Institut Pasteur à Paris. Ces visioconférences sont coordonnées par le Centre de Documentation de l'IPM.

- 3 mars et 29 avril : *VIH/SIDA*. Travaux du groupe de réflexion sur la thématique de recherche VIH/SIDA. Conférencier : FB Sinoussi, Institut Pasteur à Paris.

- 31 mars : *L'allergie : carrefour entre l'environnement et la génétique*. Le conférencier : Pr B David, Institut Pasteur à Paris, France.

- 3 août : *La rage*. Conférencier : Drs M Goudal et H Bourhy, Institut Pasteur à Paris, France.

- 21 et 22 septembre : *Résistance bactérienne aux antibiotiques : types de résistance / mécanismes*. Conférencier : Pr A Philippon, Bactériologiste à la Faculté de Médecine Cochin-Port-Royal, Université de Paris V, co-directeur du cours de bactériologie médicale, Institut Pasteur à Paris.

- 4 décembre : *Le Choléra, aspects épidémiologiques*. Conférencier : Dr ML Quilici, Institut Pasteur à Paris.

## Formations

Dispensées par le Responsable du Centre de Documentation :

- 23-26 février, 4-5 mai : De la création à la gestion d'une Base de données bibliographiques avec l'outil documentaire Endnote 9.0.

- 10 mars : Recherche d'articles et de documents sur le net. Apprenants Atelier Paludisme.

- 12-14 octobre : Recherches de bibliographies sur le net. Cours Ursida.

Formations reçues par le Responsable du centre de Documentation

- 30 avril au 3 mai : Création et gestion de site dynamique Php / Mysql. AUF; Financement : IPM.

- Octobre 2009 – juillet 2010 : "Les Technologies de l'Information et de la Communication dans le Système d'Information Documentaire". Organisateur : Institut national des techniques de la documentation INTD/CNAM /ADBS, France; Financement : IPM.

## 2- Secrétariat scientifique

Razafintsoa N, Rajerison F

Bien que le service s'investit aussi à l'ornement et à la présentation de l'IPM (ex : tableaux en bois sculpté "historique de l'IPM", la production de documents assistée par ordinateur représente la quasi-totalité des tâches dévolues au secrétariat :

- mise en page et édition des rapports d'activités  
- posters, transparents, programmes, invitations, ont été conçus et édités à l'occasion de diverses manifestations de l'IPM

- impressions, reproductions et reliures de divers documents des autres services

- mise à jour du page Web du site internet de l'Institut Pasteur de Madagascar

- assistance aux diverses manifestations scientifiques : ateliers, cours, formations.

Des supports ont été produits principalement pour les manifestations suivantes :

- cours international sur le paludisme "Atelier Paludisme 7<sup>ème</sup> édition" du 7 mars au 17 avril

- cours international URSIDA "Prise en charge au laboratoire des patients vivants avec le VIH/SIDA" du 5 au 16 octobre.

## 3- Parlures

Il s'agit d'exposés techniques organisés au sein de l'Institut Pasteur de Madagascar.

28 janvier : **Ramahefarisoa RM**. Mise au point et évaluation d'outils de diagnostic de la cysticercose porcine.

4 février : **Andrianaranjaka V**. Estimation du nombre de copie de pvmdr chez des isolats de *Plasmodium vivax* à Madagascar.

25 mars : **Raonivalo J**. Prévalence de *Listeria* et de *Salmonella* dans le cresson recueilli sur 5 sites témoins dans la ville d'Antananarivo.

13 mai : **Tantely ML**. Etude des moustiques vecteurs potentiels du virus de la Fièvre de la Vallée du Rift.

17 juin : **Razanajatovo N**. Identification et caractérisation des infections respiratoires aiguës à Madagascar.

24 juin : **Olive MM**. L'Identification des réservoirs sauvages potentiels de la Fièvre de la Vallée du Rift

1er juillet : **Andriamandimby SF**. LNR des arbovirus et virus responsables de Fièvres Hémostatiques : surveillance et recherche en santé publique.

29 août : **Tantely ML**. Une année d'investigations entomologiques dans la commune d'Ambongamarina.

10 septembre : **Razafindralambo NK**. Généralités sur les arénavirus et les hantavirus.

30 septembre : **Andriamanantena TS**. Mécanismes de résistance à l'imipénème chez *Acinetobacter* isolés à Antananarivo.

25 novembre : **Rakotosamimanna S**. Approche géographique de l'étude de la tuberculose pulmonaire dans la CUA : flux de tuberculeux et agrégats spatiaux de tuberculose pulmonaire.

---

---

**Publications, Communications,  
Thèses, Mémoires, Missions scientifiques,  
Ateliers, Conférences, Visiteurs**

---

---

# Publications

## Maladies virales

- Carod JF, Rakotoarivelo RA, Randria Mamy, Andriamandimby SF. Arboviral diseases: practical approach for their diagnosis. *Spectra Biologie* 2009; 46-52.
- D'Ortenzio E, Grandadam M, Balleydier E, Dehecq JS, Jaffar-Bandjee MC, Michault A, Andriamandimby SF, Reynes JM, Filleul L. Sporadic cases of chikungunya, Réunion Island. *Euro Surveill* 2009; 3 : 14-35.
- Desvaux S, Marx N, Ong S, Gaidet N, Hunt M, Manuguerra JC, Sorn S, Peiris M, Van der Werf S, Reynes JM. Highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) outbreak in captive wild birds and cats, Cambodia. *Emerg Infect Dis* 2009; 15 : 475-478.
- Razafindratsimandresy R, Jeanmaire EM, Counor D, Vasconcelos PF, Sall AA, Reynes JM. Partial molecular characterization of alphaherpesviruses isolated from tropical bats. *J Gen Virol* 2009; 90 : 44-47.
- Tudor D, Derrien M, Diomede L, Drillet AS, Houimel M, Moog C, Reynes JM, Lopalco L, Bomsel M. HIV-1 gp41-specific monoclonal mucosal IgAs derived from highly exposed but IgG-seronegative individuals block HIV-1 epithelial transcytosis and neutralize CD4(+) cell infection : an IgA gene and functional analysis. *Mucosal Immunol* 2009; 2 : 412-426.

## Mycobactéries

- Müller B, Hilty M, Berg S, Garcia-Pelayo MC, Dale J, Boschioli ML, Cadmus S, Ngandolo BN, Godreuil S, Diguimbaye-Djaibé C, Kazwala R, Bonfoh B, Njanpop-Lafourcade BM, Sahraoui N, Guetarni D, Aseffa A, Mekonnen MH, Razanamparany VR, Ramarokoto H, Dønne B, Oloya J, Machado A, Mucavele C, Skjerve E, Portaels F, Rigouts L, Michel A, Müller A, Källenius G, van Helden PD, Hewinson RG, Zinsstag J, Gordon SV, Smith NH. African 1, an epidemiologically important clonal complex of *Mycobacterium bovis* dominant in Mali, Nigeria, Cameroon, and Chad. *J Bacteriol* 2009; 191 : 1951-1960.
- Randremanana RV, Sabatier P, Rakotomanana F, Randriamanantena A, Richard V. Spatial clustering of pulmonary tuberculosis and impact of the care factors in Antananarivo City. *Trop Med Int Health* 2009; 14 : 429-437.

- Razanamparany VR, Ramarokoto HH, Vololonirina EJ, Rasolonalona T, Michault A, Pyndiah N, Seenundun R, Sandven P, Chanteau S. RFLP clusters of *Mycobacterium tuberculosis* strains from the Indian Ocean Region : local and South Asian characteristics. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009; 104 : 441-443.

## Paludisme

- Andriantsoanirina V, Ratsimbaoa A, Bouchier C, Jahevitra M, Rabearimanana S, Radrianjafy R, Andrianaranjaka V, Randriantsoa T, Rason MA, Tichit M, Rabarijaona LP, Mercereau-Puijalon O, Durand R, Ménard D. *Plasmodium falciparum* drug resistance in Madagascar : facing the spread of unusual pfdhfr and pfmdr-1 haplotypes and the decrease of dihydroartemisinin susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53 : 4588-4597.
- Andriantsoanirina V, Lascombes V, Ratsimbaoa A, Bouchier C, Hoffman J, Tichit M, Rabarijaona LP, Durand R, Ménard D. Rapid detection of point mutations in *Plasmodium falciparum* genes associated with antimalarial drugs resistance by using High-Resolution Melting analysis. *J Microbiol Methods* 2009; 78 : 165-170.
- Barnadas C, Musset L, Legrand E, Tichit M, Briolant S, Fusai T, Rogier C, Bouchier C, Picot S, Ménard D. High prevalence and fixation of *Plasmodium vivax* dhfr/dhps mutations related to sulfadoxine/pyrimethamine resistance in French Guiana. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 81: 19-22.
- Juliano JJ, Randrianariveolosia M, Ramarosandratana B, Arie F, Mwapasa V, Meshnick SR. Nonradioactive heteroduplex tracking assay for the detection of minority-variant chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* in Madagascar. *Malar J* 2009; 8 : 47.
- Ndiaye JL, Randrianariveolosia M, Sagara I, Bras-seur P, Ndiaye I, Faye B, Randrianasolo L, Ratsimbaoa A, Forlemu D, Moor VA, Traore A, Dicko Y, Dara N, Lameyre V, Diallo M, Djimde A, Same-Ekobo A, Gaye O. Randomized, multicentre assessment of the efficacy and safety of ASAQ-a fixed-dose artesunate-amodiaquine combination therapy in the treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Malar J* 2009; 8 : 125.

- **Rabarijaona LP, Randrianariveლოსია M, Raharimalala LA, Ratsimbasa A, Randriamanantena A, Randrianasolo L, Ranarivelo LA, Rakotomanana F, Randremanana R, Ratovonjato J, Rason MA, Duchemin JB, Tall A, Robert V, Jambou R, Arie F, Domarle O.** Longitudinal survey of malaria morbidity over 10 years in Saharevo (Madagascar) : further lessons for strengthening malaria control. *Malar J* 2009; **8** : 190.
- **Rabazanahary HM, Rason MA, Carod JF, Randrianariveლოსია M.** Bioquizz parasitology (case study of the interpretation of Malaria Rapid Diagnosis Test). *Rev Francophone Lab* 2009; **414** : 67-68.
- **Randrianariveლოსია M, Randriasamimanana JR, Martin C.** Artemisinin-based combination therapies (ACTs) and herbal drugs crosstalk : facts and perspectives. *Parasite* 2009 ; **16** : 243-244.
- **Randrianariveლოსია M, Raveloson A, Randriamanantena A, Juliano JJ, Andrianjafy T, Raharimalala LA, Robert V.** Lessons learnt from the six decades of chloroquine use (1945-2005) to control malaria in Madagascar. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2009; **103** : 3-10.
- **Razakandrainibe R, Thonier V, Ratsimbasa A, Rakotomalala E, Ravaoarisoa E, Raherinjafy R, Andrianantenaina H, Voahanginirina O, Rahasana TE, Carod JF, Domarle O, Ménard D.** Epidemiological situation of malaria in Madagascar : baseline data for monitoring the impact of malaria control programmes using serological markers. *Acta Trop* 2009; **111** : 160-167.
- **Zwang J, Olliaro P, Barennes H, Bonnet M, Brasseur P, Bukirwa H, Cohuet S, D'Alessandro U, Djimde A, Martensson A, Yeka A, Karema C, Guthmann J, Hamour S, Ndiaye J, Rwagacondo C, Sagara I, Samekobo A, Sirima S, van den Broek I, Taylor WR, Dorsey G, Randrianariveლოსია M.** Efficacy of artesunate-amodiaquine for treating uncomplicated *P. falciparum* malaria in Sub-Saharan Africa : a multi-centre analysis. *Malaria J* 2009; **8** : 203.
- L, Mason HS.** Plant-derived recombinant F1, V, and F1-V fusion antigens of *Yersinia pestis* activate human cells of the innate and adaptive immune system. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2009; **22** : 133-143.
- **Rahelinirina S, Papillon Y, Ratovonjato J, Ramilijaona O, Ratsimba M, Duplantier JM, Rahalison L.** Assessment of the Rhodamine B for labelling the plague reservoir *Rattus rattus* in Madagascar. *Afr J Ecology* 2009.
- **Rahelinirina S, Duplantier JM, Ratovonjato J, Ramilijaona O, Ratsimba M, Rahalison L.** *Rattus rattus* movements study and evaluation of the plague dispersion in Madagascar. *Vect-Borne Zoo Diseases* 2010; **10** : 77-84.
- **Rajerison M, Dartevelle S, Ralafiarisoa LA, Bitam I, Andrianaivoarimanana V, Nato F, Rahalison L.** Development and evaluation of two simple, rapid immunochromatographic tests for the detection of *Yersinia pestis* antibodies in humans and reservoirs. *PLoS Negl Trop Dis* 2009; **3** : e421.
- **Tollenaere C, Brouat C, Duplantier JM, Rahalison L, Rahelinirina S, Pascal M, Leirs H, Moné H, Mouahid G, Cosson JF.** Phylogeography of the introduced species *Rattus rattus* in the western Indian Ocean, with special emphasis on the colonization history of Madagascar. *J Biogeography* 2009; **37** : 398-410.

---

## Divers

---

- **Ratsitorahina M, Rasambainarivo JH, Raharimanana S, Rakotonandrasana H, Andriamiarisoa MP, Rakalomanana FA, Richard V.** Dog ecology and demography in Antananarivo - Madagascar, 2007. *BMC Vet Research* 2009; **5** : 21.
- **Carod JF, Razafimahefa J, Randrianarisona M, Ramahefarisoa RM, Andriantseheno LM.** Diagnosis of neurocysticercosis, practical approach and difficulties. *Spectra Biologie* 2009; 173.
- **Randrianirina F, Vedy S, Rakotovao D, Ramarokoto CE, Ratsitohaina H, Carod JF, Ratsima E, Morillon M, Talarmin A.** Role of contaminated aspiration tubes in nosocomial outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-2 and CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamases. *J Hosp Infect* 2009.

---

## Peste

---

- **Del Prete G, Santi L, Andrianaivoarimanana V, Amedei A, Domarle O, D'Elios MM, Arntzen CJ, Rahalison**

## Sous presse

- **Mestre O, Luo T, Dos Vultos T, Kremer K, Jackson C, Namouchi A, JRAuzier J, Bifani P, Warren R, Rasolofo V, Mei J, Gao Q, Gicquel B.** Phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing/W strains constructed from polymorphisms in genes involved in DNA replication, recombination and repair.
- **Rahelinirina S, Papillon Y, Ratovonjato J, Ramilijaona O, Ratsimba M, Duplantier JM, Rahalison L.** Assessment of the Rhodamine B for labelling the plague reservoir *Rattus rattus* in Madagascar. *African J Ecology*.
- **Ramarokoto H, Rakotoherisoa R, Razafitsiarovana I, Razananirinomenjanahary J, Ranaivoson E, Ralamboson M, Jouan M, Boulahbal F, Rasolofo Razanamparany V.** Suivi du régime standard de chimiothérapie de 2<sup>ème</sup> ligne chez les tuberculeux déjà traités à Antananarivo. *J Med Trop*.
- **H Ramarokoto, O Ratsirahonana, JL Soares, J Ravaosolo, P Ravololonandriana, A Rakotoarisaonina, G Ranjalahy, S Ranaivohajaina, M Mosa, R Robinson, M Ratsitorahina, V Rasolofo, B Rarivoson.** Première enquête nationale sur la résistance aux antituberculeux à Madagascar (2005-2006). *Int J Tuberc Lung Dis*.
- **M Randrianarivelojosa, F Randriamamonjy.** Lutte contre le paludisme à Madagascar et les défis à relever à la base. *Bulletin de l'Académie Nationale des Arts, de Lettre et de Sciences Madagascar*.
- **Rasolofo Razanamparany V, Ramarokoto H, Ratrimoarivony C, Andriantsimetry S, Razanakotomalala V, Rakotondrasoa S, Raharisolo C, Rasolonavalona T, Vololoarinosinjatovo M, Cole ST, Honoré N.** Faisabilité du diagnostic moléculaire de la résistance de *Mycobacterium leprae* à la rifampicine à Madagascar. *Bulletin de l'Académie Nationale des Arts, de Lettre et de Sciences Madagascar*.
- **Rasolofo Razanamparany V, Raharimanga V, Andriamandimby SF, Ratsitorahina M, Ramarokoto H, Soares JL, Richard V.** Infection tuberculeuse chez les sujets contacts de patients tuberculeux pulmonaires à Antananarivo. *Bulletin de l'Académie Nationale des Arts, de Lettre et de Sciences Madagascar*.
- **N Rakotosamimanana, V Raharimanga, SF Andriamandimby, JL Soares, TM Doherty, M Ratsitorahina, H Ramarokoto, A Zumla, J Huggett, G Rook, V Richard, B Gickel, V Rasolofo Razanamparany, VACSEL/VACSYS Study Group.** Variation in immune responses to different infecting strains of *Mycobacterium tuberculosis* in AFB smear positive patients and household contacts in Madagascar.
- **Goursaud R, Lethezer C, Hem S, Merien F, Goarant C.** Correlation between antibiotic susceptibilities and genotypes in *Neisseria gonorrhoeae* from different geographical origins : determinants monitoring by real-time PCR as a complementary tool for surveillance. *Sex Transm Infect*.

# Communications

## Entomologie médicale

### Orales

- *Présentation des activités de l'Unité d'Entomologie médicale de l'IPM lors de la Réunion ACIP/Entomologie*. France, 21-25 avril.
- **N Elissa**. Tandem *Plasmodium - Anopheles : le duo infernal*. 7<sup>ème</sup> édition du cours international "Atelier Paludisme". IPM, Madagascar, 5 mars.
- **M Randrianariveლოსია, N Elissa**. *Elimination du paludisme sous les tropiques au début du 21 siècle : mythes ou réalités*. 7<sup>ème</sup> édition du cours international "Atelier Paludisme" - CHU HJRA Antananarivo, Madagascar, 11 avril.
- **LM Tantely, L Andrianaivolambo, JC Rakotoniaina, E Tata, N Elissa**. *Etude de la biologie des moustiques vecteurs potentiels du virus de la FVR présents dans la commune d'Ambongamarina*. Montpellier, septembre.

## Epidémiologie

### Orales

- **Ratsitorahina M, Rasambainarivo JH, Raharimanana S, Rakotonandrasana H, Andriamiarisoa MP, Rakalomanana FA, Richard V**. *Dog ecology and demography in Antananarivo, 2007*. Scientific colloquium "Rabies and emerging viral diseases in North Africa and Western Europe". Hammamat, Tunisie, 6-7 juin.
- **Randremanana RV, Sabatier P, Rakotomanana F, Randriamanantena A, Richard V**. *Spatial clustering of pulmonary tuberculosis and impact of the care factors in Antananarivo city (Madagascar)*. 8<sup>th</sup> International Conference on Urban Health (ICUH), Kenyatta International Conference Centre (KICC). Nairobi- Kenya, 19-23 octobre.
- **Rakotomanana F, Randremanana RV, Ratovonjato J, Randrianasolo L, Ravoniarimbina P, Andrianaja V, Rudant JP, Richard V**. *Intérêt de la télédétection dans la lutte contre les maladies à transmission vectorielle ou à hôte intermédiaire en milieu tropical : exemples à Madagascar*. Atelier national de télédétection. Antananarivo. 9-10 novembre.

- **Randrianasolo L, Héraud JM, Ravalolomanana L, Randrianarivo A, Richard V**. *Time series modeling for sentinel surveillance data from Tsiroanomandidy in Madagascar*. Africa influenza scientific symposium. Sandringham, South Africa, 11-13 décembre.

### Affichées

- **Vaillant L, Ramarokoto CE, Randrianasolo L, Carod JF, Andrianirina F, Richard V**. *Etude épidémiologique de la multirésistance aux antibiotiques des entérobactéries à Madagascar en milieu hospitalier*. X<sup>o</sup> Journées Nationales d'Infectiologie. Lyon, France, 10-12 juin.
- **Rakotomanana F, Ratovonjato J, Randremanana RV, Randrianasolo L, Raherinjafy R, Richard V**. *Geographical and environmental approach 8<sup>th</sup> International Conference of Urban Health (ICUH)*. Nairobi, Kenya, 23-25 septembre.
- **Rakotomanana F, Randremanana RV, Ratovonjato J, Randrianasolo L, Ravoniarimbina P, Andrianaja V, Rudant JP, Richard V**. *Intérêt de la télédétection dans la lutte contre les maladies à transmission vectorielle ou à hôte intermédiaire en milieu tropical : exemples à Madagascar*. Atelier national de télédétection, Antananarivo. 9-10 novembre.

## Maladies virales

### Orales

- **Andriamandimby SF**. *Surveillance sentinelle des arboviroses et épidémies de Fièvre de la vallée du Rift*. 1<sup>er</sup> Colloque des Laboratoires et Centres Nationaux de Référence. Antananarivo, Madagascar, 10 juillet.
- **Héraud JM**. *La Surveillance Sentinelle de la Grippe à Madagascar*. 1<sup>er</sup> Colloque des Laboratoires et Centres Nationaux de Référence. Antananarivo, Madagascar, 10 juillet.
- **Héraud JM**. *Atelier sur la Surveillance de la Fièvre de la Vallée du Rift (FAO)*. Antananarivo, Madagascar, 20 octobre.
- **Razafindratsimandresy RML**. *Revue Nationale PEV*. Antsirabe, Madagascar, 4-5 novembre.

- **Razanajatovo N.** *Etiology of IRA in Antananarivo – One year retrospective study.* 1<sup>st</sup> African symposium on influenza. Johannesburg, Afrique du Sud, 7-11 décembre.

### Affichées

- **Bessaud M, Rakoto Andrianarivelo M, Rousset D, Jegouic S, Joffret ML, Balanant J, Gouandjika-Vasilache I, Razafindratsimandresy R, Reynes JM, Delpeyroux F.** *Co-circulation and co-evolution of human enteroviruses species C and polioviruses.* Conférence scientifique internationale RIIP. Research on infectious diseases : a global challenge. Institut Pasteur à Paris, 26-27 juin.
- **The FSP/RAI/ARV study team.** *Low prevalence of transmitted HIV-1 drug resistance mutations in untreated patients from sub-Saharan Africa and South East Asia: the FSP/RAI/ARV study.* Conférence scientifique internationale RIIP. Research on infectious diseases : a global challenge. Institut Pasteur à Paris, 26-27 juin.

### Mycobactéries

#### Orales

- **V Rasolofo Razanamparany.** *3<sup>rd</sup> meeting for EDCTP project for TB vaccine capacity building.* KCMC - Moshi, Tanzania, 2-4 septembre.

#### -Affichées

- **Ramarokoto H, Rarivoson B, Rakotonjanahary M, Cauchoix B, Rakotoarisaonina A, Rasolofo V, Robinson R, Ranjalahy G.** *Le réseau des laboratoires de tuberculose à Madagascar.* 17<sup>ème</sup> Conférence de L'Union de la Région Afrique. Ouagadougou, 24-26 juin.
- **Ramarokoto H, Ratsirahonana O, Soares JL, Ranjalahy G, Ravololonandriana P, Ranaivohajaina S, Rakotoarisaonina A, Mosa M, Robinson R, Ratsitorahina M, Rasolofo V, Rarivoson B.** *Surveillance de la résistance aux antituberculeux à Madagascar.* 17<sup>ème</sup> Conférence de L'Union de la Région Afrique. Ouagadougou, 24-26 juin.
- **Ramarokoto H, Soares JL, Ratsirahonana O, Ravaosolo J, Ravololonandriana P, Rakotoarisaonina A, Ranjalahy G, Ranaivohajaina S, Mosa M, Robinson R, Ratsitorahina M, Rarivoson B, Rasolofo V.** *Surveillance de la multirésistance (MDR) de Mycobacterium tuberculosis à Madagascar.* Colloque

des Laboratoires Nationaux de Référence pour les Maladies Transmissibles à Madagascar "Spécial Grippe". Motel d'Anosy, Antananarivo, 10 juillet.

- **Ramarokoto H, Ranjalahy G, Rarivoson B, Ratsirahonana O, Ranaivohajaina S, Rakotoarisaonina A, Ravaosolo J, Rasolofo V, Soares LJ.** *Enquête nationale sur la résistance primaire aux antituberculeux à Madagascar, 2005-2006.* Colloque sur les Laboratoires Nationaux de Référence, Motel Anosy Antananarivo, 10 juillet.

### Paludisme

#### Orales

- **Randrianariveლოსია M.** *Réussir l'élimination du paludisme : perspectives.* Académie Nationale des Arts, de Lettres et de Sciences, Antananarivo, 23 juillet.
- **Randrianariveლოსია M.** *Substances naturelles, plantes et savoirs.* Symposium BioMad 2009, Biodiversité/Valorisation des Substances Naturelles, Antananarivo, 13-15 octobre.
- **Randrianariveლოსია M.** *Self-learning based programme in Madagascar and Tanzania: an innovative approach to train future malaria experts.* 5<sup>th</sup> MIM Pan-African Malaria Conference, Nairobi, 2-6 novembre.

### Peste

#### Orales

- **Andrianaivoarimanana V.** *Kinetics of IgG production and memory T cell proliferation in confirmed plague patients.* Conférence scientifique internationale RIIP. Research on infectious diseases : a global challenge. Institut Pasteur à Paris, 26-27 juin.
- **Rahalison L.** *Influence du Climat sur la peste à Madagascar.* Atelier : use of weather and climate information in support of health services in Madagascar. Antananarivo, 14-16 octobre.
- **Rahalison L.** *Development of sub-regional operational guidelines for plague control.* Réunion organisée par l'OMS. Almaty, Kazakhstan Asie Centrale, 29-30 octobre.
- **Rahalison L.** *Update on ongoing research and projects at Plague Unit, Pasteur Institute, Antananarivo, Madagascar.* Réunion organisée par l'OMS.

Almaty, Kazakhstan Asie Centrale, 29-30 octobre.

- **Rahalison L.** *Development of a rapid test for detecting specific plague antibodies.* Réunion organisée par l'OMS. Almaty, Kazakhstan Asie Centrale, 29-30 octobre.
- **Rahalison L.** *Update on rapid diagnostic tests for plague.* Réunion organisée par l'OMS. Almaty, Kazakhstan Asie Centrale, 29-30 octobre.
- **Rahelinirina S, Duplantier JM, Ratsimba M, Rahalison L.** *Plague dispersion evaluation by rats movements study in Madagascar.* Symposium on the ecology of plague and its effects on wildlife. Fort-Collins, Colorado- USA, 4-6 novembre.

#### Affichées

- **Rahalison L, Rajerison M, Ralafiarisoa L, Randriambeloso J, Ramiakajato H, Ratsitorahina M.** *Review of 5 years of routine use of a rapid test for plague diagnosis : What impact on the plague concern in Madagascar?* Conférence scientifique internationale RIIP. Research on infectious diseases : a global challenge. Institut Pasteur à Paris, 26-27 juin.
- **Rahelinirina S, Papillon Y, Duplantier JM, Rahalison L.** *Study of the dispersion of rats at the scale of the habitats in the plague foci in Madagascar : application of the Rhodamine B biomarker.* Conférence scientifique internationale RIIP. Research on infectious diseases : a global challenge. Institut Pasteur à Paris, 26-27 juin.

---

## Divers

---

#### Orales

- **Carod JF.** *Rare tropical fungi, infectious disease conference.* Michigan state University, Kalamazoo, MI-USA, 13 octobre.
- **Carod JF.** *Antimicrobial bioresistance in Madagascar and Africa.* Internal Medicine Ground Round, 14 octobre.
- **Carod JF.** *Tropical diseases interactive cases including cysticercosis and schistosomiasis.* Tropical Medicine Journal club, 15 octobre.
- **Carod JF.** *Pediatric ground round : tinea capitis outbreak in Antananarivo school, diagnosis approach for neurocysticercosis, malaria and typhoid fever in children,* 16 octobre.
- **Andriamanantena TS, Ratsima E, Ramparany L, Rakotonirina HC, Randrianirina F, Carod JF, Richard V, Talarmin A.** *Dissemination of multidrug resistant Acinetobacter baumannii in different hospitals of Antananarivo, Madagascar.* RICAI, Paris-France, 3-4 décembre.

#### Affichées

- **Randrianirina F, Andriatahina T, Ramparany L, Talarmin A, Raobijaona H, Buisson Y, Richard V.** *High prevalence of extended spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae carriage in a pediatric unit in Madagascar.* RICAI, Paris-France, 3-4 décembre.

## Thèses et Mémoires

- **Rakotomanana F.** Thèse de Doctorat de l'Université Paris Est. *Apport d'un Système d'Information Géographique et de la télédétection dans la prévention du risque de survenue d'épidémie de paludisme sur les Hautes Terres Centrales de Madagascar.* Antananarivo. Soutenu le 7 janvier.
  - **Andrianaranjaka VH.** Mémoire de DEA de Biochimie, Option Biotechnologie - Microbiologie. Facultés des Sciences, Université d'Antananarivo - *Estimation du nombre de copies du gène MDR chez Plasmodium vivax.* Soutenu le 16 janvier.
  - **Raonivalo J.** Mémoire de DEA de Biochimie, Option Biotechnologie - Microbiologie. Facultés des Sciences, Université d'Antananarivo - *Prévalence de salmonella et de Listeria monocytogenes dans le cresson recueilli sur 5 sites témoins dans la ville d'Antananarivo.* Soutenu le 14 mai.
  - **Rahelinirina S.** Thèse de Doctorat en Sciences de la vie. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo - *Risque pesteux dans les foyers ruraux du Moyen Ouest malagasy : déplacements et structuration des populations des rats noirs Rattus rattus (Linnaeus, 1758) de l'échelle de l'habitat à celle du paysage.* Soutenu le 31 juillet.
  - **Razakandrainibe HTR.** Thèse de Doctorat en Sciences de la vie. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo - *Contribution à l'évaluation de la transmission du paludisme à Madagascar par l'utilisation des marqueurs sérologiques (anticorps anti-MSP1-19 et anti-CSP.* Soutenu le 7 août.
  - **Herindrainy P.** Master 2 en Santé Publique - *Portage rectal des BLSE en milieu communautaire à Antananarivo.* IFMT/Laos. Soutenu le 30 septembre.
  - **Andriamanantena T.** Mémoire de DEA de Biochimie. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo - *Etude de mécanismes de résistance à l'Imipénème des souches d'Acinetobacter baumannii isolées à Antananarivo.* Soutenu le 27 octobre.
  - **Rakotosamimanana S.** Maîtrise de géographie, option géographie humaine - *L'étude de flux de tuberculeux et agrégats spatiaux de tuberculose pulmonaire dans la commune urbaine d'Antananarivo.*
  - **Goussef M.** Mastère 2 en épidémiologie - *Cartographie des étiologies des diarrhées et facteurs de risques associés.* Institut Pasteur à Paris/CNAM.
  - **Ramanantsoa L.** Master 2 Santé Publique - *Evaluation du système de surveillance sentinelle développé à Madagascar.* IFMT/Laos.
  - **Rajaonarivo Ch.** Master 2 Santé Publique. *Les diarrhées infantiles à Campylobacter et leurs facteurs de risque.* IFMT/Laos.
  - **Razafitsiferamamonjy V.** Mémoire de DTS en radioprotection. Institut National des Sciences et Techniques Nucléaires (INSTN), Université d'Antananarivo - *Perspective pour la gestion de déchets radioactifs solides contenant du Tritium à Madagascar. Exemple de l'Institut Pasteur de Madagascar.* Soutenu le 16 décembre.
  - **Rakotoniriana HMI.** Thèse de Médecine. Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo - *Le synoviosarcome vu au Centre Hospitalier d'Antananarivo (à propos de deux cas).* Soutenu le 17 décembre.
-

## *Missions scientifiques, ateliers et conférences*

- **Ratovonjato J.** Réunion inter-pays sur le projet “Renforcement des capacités nationales pour combler les lacunes entre la recherche/développement et la mise en œuvre efficace des interventions de lutte contre les vecteurs”. Maputo, Mozambique (janvier).
- **Elissa N, Tantely LM.** Réunion projet RIFT - OI. Antananarivo, Madagascar (janvier).
- **Reynes JM :** Participation au séminaire régional OIE sur la ré-émergence de la FVR. Bloemfontein, Afrique du Sud (16-18 février).
- **Ratsitorahina M :** Participation à la 2<sup>ème</sup> réunion AfroReb (Rage). Dakar (13-16 mars).
- **Héraud JM.** Meeting with Regional Influenza Laboratories, WHO Collaborative Centres on Influenza and WHO H5 Reference Laboratories. Séville, Espagne (24-27 mars).
- **N Elissa, L Andrianaivolambo, E Tata, LM Tantely.** Investigations autour des cas de RVF à Ambalavao. Madagascar (avril).
- **Randrianariveლოსია M.** Towards a consensus on *in vitro* methods. WWARN *in vitro* Meeting, IMEA, Paris (4-5 mai).
- **Elissa N, Rakotoniaina JC, Tata E.** Investigations autour des cas de Chikungunya à Toamasina. Toamasina (juin).
- **Rahalison L.** Réunion CCOMS Peste. Dar Es Salam (23-27 juin).
- **Rahalison L.** Commission de classement. Niamey, Niger (29 juin - 10 juillet).
- **Héraud JM.** 2<sup>ème</sup> Réunion des Centres Nationaux de la Grippe dans la Région Africaine. Yaoundé, Cameroun (30 juin au 2 juillet).
- **Rabemanantsoa S, Razafindratsimandresy R :** Participation à la réunion annuelle des directeurs, superviseurs et gestionnaires de bases de données des laboratoires de poliomyélite et rougeole. Entebbe, Ouganda (4-10 juillet).
- **Héraud JM :** Meeting H1N1v. Institut Pasteur à Paris (1<sup>er</sup>-5 septembre).
- **Rasolofo V.** Réunion des participants du projet ETMATACAP (EDCTP). Kilimandjaro Christian Medical Centre (KCMC). Moshi, Tanzanie (2-4 septembre).
- **Rahalison L.** Réunion sur le projet ANR. Montpellier, France (19-23 septembre).
- **Elissa N.** Réunion ENTOMORIIP. Casablanca, Maroc (28 septembre au 3 octobre).
- **Ramarokoto CE :** Atelier de groupe d’experts sur les bilharzioses uro-génitales. OMS, Genève (29 septembre au 4 octobre).
- **Rasolofo V, Rakotosamimanana N.** Réunion des participants du projet PTR 253. Kilimandjaro Christian Medical Centre (KCMC). Institut Pasteur, Paris (1<sup>er</sup> octobre).
- **Rakotomanana F.** Atelier de formation sur l’utilisation de l’information climatique dans le secteur santé. Organisé par l’Organisation Mondiale de la Météorologie. Antananarivo (5-9 octobre).
- **Rasolofo Razanamparany V.** 3<sup>ème</sup> congrès international de Pneumologie. Motel Anosy, Antananarivo (16 octobre).
- **Ravaonindrina N :** Participation à la 15<sup>ème</sup> session du Comité CODEX sur les fruits et légumes frais. Mexique (19-23 octobre).
- **Rakotomanana F, Randremanana RV :** Participation au 8<sup>ème</sup> International Conference of Urban Health. Nairobi, Kenya (20-24 octobre).
- **Ramarokoto H.** Atelier de travail sur les laboratoires supranationaux de référence tuberculose. Le Caire, Egypte (21-22 octobre).
- **Randremanana RV :** Participation à la 9<sup>ème</sup> Assemblée générale du réseau INDEPTH0. Pune, Inde (26-29 octobre).
- **Randrianariveლოსია M :** Participation au MIM Conférence. Nairobi, Kenya (2-6 novembre).
- **Rakotomanana F.** Atelier National de Télédétection. Organisé par l’Université d’Antananarivo, l’Institut et Observatoire en Géophysique (IOGA), l’Institut de

- Recherche en Développement (IRD) et le Centre National d'Etude Spatiale (CNES). Antananarivo (9-10 novembre).
- **Rahalison L.** Consultant temporaire lors d'une réunion organisée par l'OMS. Lima-Pérou, Amérique Latine (14-21 novembre).
  - **Randrianariveლოსია M.** Participation aux différentes réunions du comité Roll Back Malaria de Madagascar, notamment pour la rédaction des projets pays sur l'AMFm et le NSA.
  - **Ratovonjato J, Rakotoniaina JC.** Collecte des *Ornithodoros moubata* dans le cadre du projet "Leptospiroses/Borrélioses" dans 3 districts Antananarivo, Toamasina et Fenoarivobe. Madagascar (novembre).
  - **Ratovonjato J, Rakotoniaina JC.** Investigations entomologiques autour des cas de Paludisme. Maevatanàna, Madagascar (novembre).
  - **Ramparany L :** Participation à réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse (RICAI 2009) et journée de Microbiologie section des agents microbiens - stage de perfectionnement au laboratoire d'immunologie. Hôpital Pitié Salpêtrière, France (28 novembre au 6 décembre).
  - **Héraud JM, Razanajatovo N :** Participation à la Conférence scientifique Grippe. Johannesburg, Afrique du Sud (6-12 décembre).
  - **Ratovonjato J, Rakotoniaina JC, Tata E, Andrianaivolambo L.** Mise en place de l'évaluation entomologique des CAID dans 3 sites des Hautes Terres Ambohimahasoà, Betafo et Ankazobe. Madagascar (décembre).
  - **Elissa N, CRVOI, Lutte antivectorielle (LAV), Technique d'insectes stériles (TIS).** Création d'un réseau régional. Ste Clotilde, La Réunion (13-16 décembre).
-

## *Visites*

- **Jean Marc DUPLANTIER, CBGP, UMR IRD/INRA/CIRAD/SupAgro Montpellier**, partenaires dans le projet ANR du 27 juillet au 2 août.
  - **M CORNET, E FERQUEL, N Sertour**, Unité de biologie des Spirochètes, Institut Pasteur à Paris, CNR Leptospire et Borrelia du 19 avril au 1<sup>er</sup> mai.
  - **Marc JOUAN**, Directeur des Affaires Internationales, Institut Pasteur à Paris : Conseil de perfectionnement, 10 septembre.
  - **Richard DAVIS et Diane Gross**, représentants du CDC de la division Influenza. Mise en place d'un programme de collaboration entre le CDC d'Atlanta et Madagascar représenté par l'IPM. 20 septembre.
  - **PHANDSCHUMACHER**, Université de Strasbourg, partenaires dans le projet ANR du 3 au 14 novembre.
  - **François BOILLOT, Jean Louis ROCHE, Lidvina GRAND**, Consultants de l'Union, OMS, GDF. Visite d'évaluation du PNT, du 16 au 19 décembre.
  - **CRVOI – La Réunion**
    - Pr Koussay Dellagi, Directeur du CRVOI
    - Dr Eric Cardinal,
    - Dr Pablo Tortosa, Entomologiste
    - Dr Hervé Pascalis, Virologue,
    - Dr Mathieu Roger, Epidémiologiste
    - Dr Sébastien Boyer, Entomologiste
  - **SUMITHOMO**
    - Hirochi Tanaka, Team Leader, Marketing Department, Vector Control Division, Japon
    - Shohei Yasuda, Project Manager, Communicable Disease Control Department, Japon
    - Minoru Morita, Manager, Chemicals and Plastic Division, Afrique du Sud
    - Hugues Ranjoanina, Directeur Général Adjoint, Madagascar
  - **PROCHIMAD** : Fidimalala Andriatsihoarana, Directeur de Département
  - **Pr Yasuyuki SAWADA**, Faculté d'Economie, Université de Tokyo, Japon
  - **Dr Sato CHIZUKO**, African Studies Group, Institute of Developing Economies, Japon
  - **IRD – Montpellier** : Drs JM Duplantier, Didier Fontenille, UR 016 Caractérisation et contrôle des populations de vecteurs
  - **IPP** : Elisabeth Ferquel, Muriel Cornet, Unité de biologie des Spirochètes, CNR Leptospire et Borrelia
  - **SYNGENTA**
    - Andrew Irven, Regional Manager, Southern Africa Vector Control, Afrique du Sud
    - Anselme Ranarivelo, Madagascar
  - **AGRIPHAR** : Marc Dubois ; Alain Randrianasolo ; Harold van der Valk, Environmental toxicology, Pesticide Management,
  - **DASS** : Marie Bavielle, La Réunion
  - **CIRAD** : Véronique Chevalier, France.
-

# Activités et projets de recherche 2010

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