

CENTRE D'INFECTIOLOGIE CHARLES MERIEUX

CICM - Madagascar



RAPPORT D'ACTIVITES

2011-2013



Centre d'Infectiologie Charles Mérieux
Université d'Antananarivo
BP 4299
Antananarivo 101
Madagascar
e-mail: cicm@univ-antananarivo.mg
tél : +261 20 26 410 17

Table des matières

Introduction	3
Organigramme 2013	4
Attribution des membres du personnel.....	5
Collaboration et partenariat	6
Activités de recherche.....	8
Etude pilote multicentrique de la surveillance des pneumonies chez les enfants de moins de 5 ans	8
Etude de l'étiologie des fièvres chez les enfants de moins de 5 ans dans une zone d'endémie palustre, Ampasimanjeva, Manakara	10
Etude épidémiologique-clinique de la lèpre dans la région Analamanga, Antananarivo	12
Etude pilote de la surveillance des mycoses tropicales profondes (sporotrichose – chromomycose – mycétome) à Madagascar	14
Activités de service et de support	16
Surveillance des méningites à <i>Haemophilus influenzae</i> et des méningites bactériennes pédiatriques dues à <i>Neisseria meningitidis</i> et <i>Streptococcus pneumoniae</i> (Hib-MBP) chez les enfants de moins de 5 ans	16
Surveillance des diarrhées à rotavirus chez les enfants de moins de 5 ans	18
Etude multicentrique de la surveillance de la fièvre typhoïde en Afrique sub-saharienne - TSAP (<i>Typhoid Fever Surveillance Program in Sub-Saharan Africa</i>)	19
Activités de formation.....	20
Produits scientifiques.....	23
Publications	23
Communications orales.....	23
Communications affichées	23
Thèses et mémoires	24

Introduction

Le Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM) a été construit à l'Université d'Antananarivo en 2010 par la Fondation Mérieux. Une convention tripartite entre le Ministère de la Santé Publique, l'Université d'Antananarivo et la Fondation Mérieux règle les modalités de gestion du CICM. Il a été inauguré le 13 Avril 2011.

La mission du CICM est d'accompagner le développement de la recherche et de la formation au sein de l'Université d'Antananarivo avec des infrastructures innovantes permettant aux étudiants de poursuivre leurs études et mener à bien leurs recherches scientifiques dans le domaine des maladies infectieuses.

Le CICM est également un partenaire ouvert aux instituts de recherche nationaux et internationaux en charge de la Santé Publique, porteurs de projets dans le domaine des maladies infectieuses.

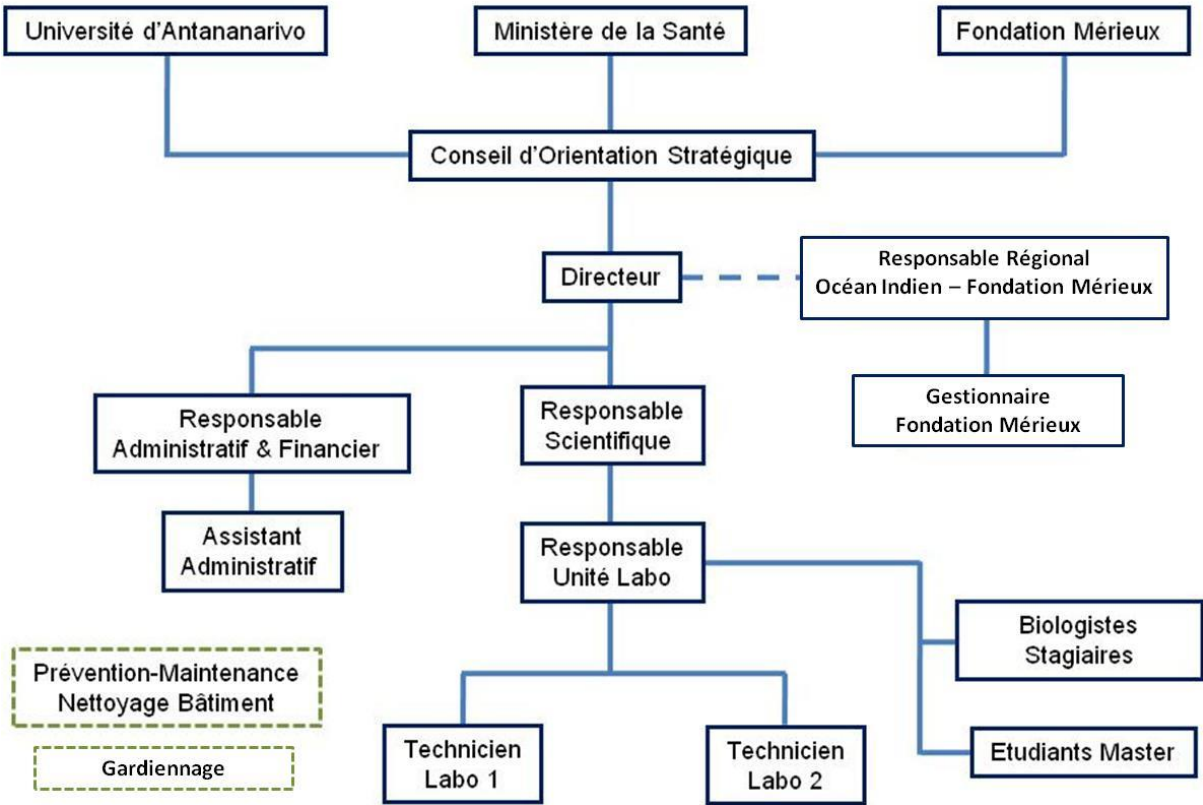
Présentation des locaux

Le CICM comporte quatre parties :

- 1- Un espace administratif comprenant les bureaux, le secrétariat, un open space et une salle de réunion (bibliothèque).
- 2- Une salle de Travaux Pratiques (TP) capable d'accueillir 20 personnes.
- 3- Un Laboratoire Rodolphe Mérieux (LRM) constitué de 2 pièces de niveau de sécurité P2+, une salle dédiée à la bactériologie, une plateforme de biologie moléculaire, une laverie et une salle de stockage.
- 4- Une salle de conférence pour 80 places.

Intégré dans un réseau de laboratoires de recherche appelé GABRIEL (*Global Approach to Biological Research, Infectious diseases and Epidemics in Low-income countries*), le LRM jouit de l'appui de différents partenaires répartis dans le monde et tous œuvrant dans la lutte contre les maladies infectieuses.

Organigramme 2013



Attribution des membres du personnel

Centre d'Infectiologie Charles Mérieux :

Fonction	Nom et Prénoms	Courriel
Directeur	SAMISON Luc Hervé	drsamison@yahoo.fr
Responsable Administratif et Financier	RAJOELIMAHEFA Alida	alidaraj_cicm@yahoo.fr
Responsable Scientifique	MAËDER Muriel (jusqu'à octobre 2013) RAKOTO ANDRIANARIVELO Mala (depuis novembre 2013)	murielnirina@gmail.com mala.rakoto@hotmail.fr
Internes en biologie	ZAFINDRAIBE Julie RAZAFINDRAKOTO Catherine	juliemail_21@yahoo.fr titarazafy@gmail.com
Techniciens de laboratoire	RAKOTOARIVO Toky HARISOA Tseheho	andtoki@yahoo.fr htseheho@yahoo.fr
Etudiant Master	RASAMOELINA Tahinamandranto	ninamandranto@yahoo.fr
Assistante administrative	RANDRIAMANANTENA Onja	onja.assist@gmail.com

Fondation Mérieux :

Fonction	Nom et Prénoms	Courriel
Représentante régionale	CONTAMIN Bénédicte	benedicte.contamin@fondation-merieux.org
Gestionnaire	RAKOTOARISOA Luciana F.	luciana.rakotoarisoa@fondation-merieux.org
Chauffeur coursier	RAKOTOARISOANIRINA Elysée	

Collaboration et partenariat

- **Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM), Université d'Antananarivo**
 - Investigateur coordonnateur : Dr Muriel Maëder (jusqu'à octobre 2013)
Dr Mala Rakoto Andrianarivelo (depuis novembre 2013)
Dr Bénédicte Contamin
 - Investigateur biologique : Dr Norosoa Julie Razafindraibe
 - Techniciens : Mr Tseheho Harisoa
Mr Toky Rakotoarivo
Mr Tahinamandranto Rasamoelina

- **Laboratoire des Pathogènes Emergents (LPE) de la Fondation Mérieux, Lyon, France**
 - Directrice de projet et Directrice de Recherche: Dr Glauca Paranhos-Baccalà
 - Coordinatrice d'étude: Dr Valentina Picot

- **Hôpital Universitaire Mère Enfants, Tsaralalàna (HUMET), CHU Antananarivo**
 - Investigateur clinique principal : Pr Noeline Ravelomanana
Pr Annick Robinson
 - Investigateurs biologiques : Dr Liliane Raboba
Dr Vonintsoa Lalaina Rahajamanana

- **USFR Dermatologie-Rhumatologie, HU Joseph Raseta Befelatanana (HUJRB), Antananarivo**
 - Investigateur clinique principal : Pr Rabenja Fahafahantsoa Rapelanoro
Pr Lala Ramarozatovo

- **Fondation Médicale d'Ampasimanjeva (FMA), Manakara**
 - Investigateur clinique principal : Dr Martin Randriatiana Raelina

- **Programme National de Lutte contre la Lèpre (PNLL), Antananarivo**
 - Dr Randrianantoandro Andriamira

- **Fondation Raoul Follereau Madagascar, Antananarivo**
 - Dr Bertrand Cauchoix

- ***CNR des Mycobactéries et de la Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux. Laboratoire de Bactériologie- Hygiène Groupe Hospitalier Saint Louis - Lariboisière - Fernand Widal, France***
Pr Emmanuelle Cambau

- ***Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Suisse***
Pr Stewart Cole

- ***CAPRION protéomique, Canada***
Dr Eustache Paramithiotis

- ***Parasitologie-Mycologie – Institut de Biologie et de Pathologie, CHU de Grenoble, France***
Pr Muriel Cornet

- ***Programme Elargi de la Vaccination (PEV), Ministère de la Santé, Madagascar***
Dr Marius Rakotomanga

- ***Bureau Pays de l'OMS - Madagascar***
Dr Samuel H. Andrianarisoa (Maladies Tropicales Négligées)
Dr Constance Razaiarimanga (PEV)

- ***Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques (ESSAGRO), Université d'Antananarivo***
Pr Raphaël Rakotozandrindrainy

Activités de recherche

Les axes de recherche prioritaires définis actuellement au LRM sont les maladies à potentiel épidémique et les dermatoses tropicales, toujours dans un souci d'amélioration des outils de diagnostic offrant ainsi une meilleure santé à la population locale.

Etude pilote multicentrique de la surveillance des pneumonies chez les enfants de moins de 5 ans

Contexte & justification

Les infections respiratoires aiguës (IRA) basses sont l'une des principales causes de mortalité infantile avec une estimation de plus de 2 millions de décès chaque année; les pays les plus touchés étant les pays en voie de développement. Les pneumonies peuvent être d'origine virale ou bactérienne mais le diagnostic étiologique d'une pneumonie est difficile à établir. En effet, ni la clinique, ni la radiographie du thorax, ni la biologie ne sont spécifiques et l'hémoculture n'est positive que dans 10-20% des cas. Ainsi, le diagnostic est réalisé sur des critères clinico-radiologiques et l'implication d'un agent viral dans les pneumonies est rarement recherchée.

L'essor des techniques de biologie moléculaire a permis lors de ces dernières décennies de découvrir de nombreux virus et notamment des virus associés au tractus respiratoire. En dehors du fait que les tests diagnostiques existant à l'heure actuelle n'atteignent pas la sensibilité désirée, il semble désormais acquis par l'ensemble de la communauté que de nouveaux agents viraux et bactériens existent et qu'ils sont probablement associés à des manifestations cliniques respiratoires basses telles que pneumonie, bronchite aiguë, surinfection de bronchite chronique, ou syndrome grippal.

A Madagascar, les données sur les viroses respiratoires circulant au niveau communautaire étaient inexistantes pendant plus de 20 ans et ce n'est que récemment que des mises à jour ont été apportées à travers une étude menée en milieu rural¹. Concernant les infections respiratoires d'origine bactérienne, il n'existe pas de politique de surveillance des pneumonies à *Streptococcus pneumoniae*, il n'y a donc pas de données actualisées sur leurs incidences ainsi que sur les sérotypes prédominants à Madagascar.

Objectifs

Principal :

- Identifier les agents virologiques et bactériens impliqués dans les pneumonies chez l'enfant de 2 à 59 mois hospitalisé afin de déterminer leur prévalence et leur implication dans la survenue des pneumonies.

Secondaires :

- Etudier l'association d'agents viraux-bactériens dans les pneumonies et déterminer si la co-infection virus/bactérie est un facteur de gravité.
- Etablir une corrélation entre le type de pathogène identifié (virus ou bactérie) et un marqueur de l'inflammation (*C reactive protein*-CRP et procalcitonine-PCT).

¹ Hoffmann J et al. PLoS one 2012, 7(8):e43666. doi:10.10371/journal.pone.0043666

- Déterminer les sérotypes de *Streptococcus pneumoniae* dans les prélèvements nasopharyngés et sanguins.
- Identifier et caractériser de nouveaux agents infectieux ou variants (viraux ou bactériens) dans les échantillons dont l'étiologie reste inconnue.

Méthodologie et résultats

Il s'agit d'une étude prospective multicentrique cas-contrôle qui impliquait le Brésil, le Cambodge, la Chine, Haïti, l'Inde, Madagascar, le Mali, la Mongolie et le Paraguay. A Madagascar, l'étude s'est déroulée à l'Hôpital Universitaire Mère Enfants de Tsaralàna (HUMET), Antananarivo du 01/12/2010 au 31/12/2013 (3 ans 1 mois) et prévoyait un recrutement de 100 enfants chacun des 2 groupes. Les enfants de moins de 5 ans hospitalisés répondant aux critères de sélection², ainsi que des enfants témoins du même groupe d'âge ont subi des prélèvements après le consentement éclairé des parents.

Des prélèvements nasopharyngés (PNP), de liquide pleural, de sang et d'urines ont été réalisés chez les patients hospitalisés et seulement des PNP chez les enfants contrôles. Les analyses sanguines consistaient en une hémoculture, une NFS et un dosage de la *C reactive protein*-CRP et de la procalcitonine-PCT. L'analyse moléculaire permettait de détecter *Haemophilus influenzae* (*Hib*), *Streptococcus pneumoniae* (*Sp*) et *Staphylococcus aureus* (*Sa*) dans le sang³ et le typage de pathogènes respiratoires viraux et bactériens dans les PNP⁴. Un typage de *Sp* a été également réalisé⁵. La présence résiduelle d'antibiotiques a été recherchée dans les urines. Une radiographie pulmonaire a été prise pour chaque patient. L'étude a bénéficié de l'avis favorable du Comité National d'Éthique.

Au total, 123 enfants cas et 114 enfants contrôles ont été retenus après exclusion des cas qui ne répondaient pas aux critères d'inclusion. *Sp*, *Hib* et *Sa* ont été détectés dans le sang chez 8 enfants (6,5%), 4 (3,2%) et 3 (2,4%), respectivement. *Sp* (35,4% chez les cas vs. 32,5% chez les contrôles), rhinovirus (12,0% vs. 14,0%), adenovirus (6,9% vs. 11,5%) étaient les agents pathogènes les plus fréquemment retrouvés dans les PNP. Au total, 142 souches de *Sp* chez les cas et 114 chez les contrôles ont été identifiées avec dans certains cas une co-infection avec au moins deux sérotypes de *Sp*. Les sérotypes 5 (18,3%), 6AB (12,7%), 19F (7,7%) et 20 (7,7%) sont les plus fréquemment retrouvés chez les cas, et le sérotype 6AB (18,3%) chez les contrôles. Les autres résultats biologiques sont en cours d'exploitation. Les données obtenues montrent une grande circulation de souches de *Sp* de sérotypes divers (une trentaine de sérotypes parmi la centaine connue) dans les deux populations étudiées justifiant l'introduction de vaccins dans le Programme Elargi de Vaccination mais soulevant la question de l'adéquation vaccin-sérotype(s) prédominant(s).

Bénéficiaires et impacts

Etablissement d'un diagnostic du germe responsable de la pneumonie permettant au clinicien d'adapter le traitement antibiotique pour une meilleure prise en charge de son patient. Tous les frais de prélèvement, d'analyses biologiques, de radiologie ainsi que l'hospitalisation et le traitement prescrit par le clinicien sont pris en charge par le projet. Les résultats de l'étude serviront à améliorer la prise en charge des pneumonies chez l'enfant de moins de 5 ans et leur prévention.

Soutien financier

Fondation Mérieux

² Age : 2 à 59 mois ET température axillaire non corrigée $\geq 37^{\circ}\text{C}$ ET toux ET/OU polypnée ET début des symptômes < 14 jours ET consentement des parents

³ Triplex PCR en temps réel « maison » développé par le LPE, Lyon

⁴ PCR multiplex en temps réel (Fast Track Diagnostics (FTD) Luxembourg)

⁵ PCR multiplex en temps réel développé par le LPE Lyon (identification de 40 sérotypes de *Sp*).

Etude de l'étiologie des fièvres chez les enfants de moins de 5 ans dans une zone d'endémie palustre, Ampasimanjeva, Manakara

Contexte & justification

Selon les données de l'OMS, près de 10 millions de décès d'enfants de moins de 5 ans sont survenus en 2006. Après la période néo-natale, les principales causes de décès en milieu tropical et sous-tropical sont les infections aiguës du tractus respiratoire inférieur, le paludisme, les arboviroses et la diarrhée, souvent décrites comme des maladies fébriles inexplicables. En l'absence d'outils diagnostiques appropriés dans les pays en développement, la prise en charge des malades est souvent présomptive et symptomatique. Un syndrome fébrile est attribué au paludisme, tandis que la toux et/ou les difficultés respiratoires est classifié comme une infection aiguë du tractus respiratoire inférieur. Il est fréquent que ces 2 maladies soient associées chez le même patient, ce qui nécessite la prise simultanée d'antipaludiques et d'antibiotiques. Cependant, la majorité des enfants atteints ne reçoivent qu'une monothérapie.

Des études plus approfondies sont nécessaires pour une meilleure prise en charge des populations vivant en zone d'endémie palustre en fournissant un diagnostic plus précis et des médicaments appropriés. L'identification de marqueurs biologiques comme indicateur spécifique du processus pathogénique à la place de la fièvre est une excellente alternative pour le développement d'outil diagnostique fiable de ces maladies.

Objectifs

Principal :

- Identifier les marqueurs biologiques spécifiques associés au paludisme et aux infections aiguës du tractus respiratoire inférieur chez les enfants de moins de 5 ans vivant en zone d'endémie palustre.

Secondaires :

- Etablir une corrélation entre le type de pathogènes identifiés (bactéries, virus, parasites) et les marqueurs biologiques nouvellement identifiés ainsi que des marqueurs biologiques connus (*C reactive protein* – CRP et procalcitonine – PCT).
- Evaluer et déterminer le potentiel diagnostique de ces marqueurs biologiques et développer un outil diagnostique rapide capable de différencier l'origine bactérienne, virale, ou parasitaire de ces maladies.

Méthodologie et résultats

Il s'agit d'une étude prospective avec suivi d'une cohorte d'enfants de moins de 5 ans présentant une fièvre $\geq 37,5$ C vivant en zone d'endémie palustre à Ampasimanjeva, district de Manakara dans le Sud-Est de Madagascar. L'étude s'est déroulée du 01/12/2010 au 31/12/2013 (3 ans 1 mois). Des prélèvements naso-pharyngés (PNP) et de sang (tube sec et EDTA) ont été effectués. L'infection par le paludisme a été recherchée à l'aide d'un test de diagnostic rapide (TDR) par bandelette suivi d'un examen microscopique de la GE et du frottis sanguin. La recherche d'une infection à *Haemophilus influenzae* (Hib), *Streptococcus pneumoniae* (Sp) et *Staphylococcus aureus* (Sa) dans le sang⁶ et le typage de pathogènes respiratoires viraux et bactériens dans les PNP⁷ a été effectuée. Nous avons

⁶ Triplex PCR en temps réel « maison » développé par le LPE, Lyon

⁷ PCR multiplex en temps réel (Fast Track Diagnostics (FTD) Luxembourg)

également déterminé le portage de l'hémoglobine S (HbS) à l'origine de la drépanocytose par une technique de RT-PCR⁸. L'étude a bénéficié de l'avis favorable du Comité National d'Éthique.

Au total, 865 enfants ont été retenus pour l'étude. Le TDR du paludisme était positif chez 37,7% enfants et négatif chez 62,3%. A l'examen de la goutte épaisse et du frottis sanguin des enfants qui ont un TDR positif, *Plasmodium falciparum* a été détecté dans 71,1% des cas, *Plasmodium malariae* dans 0,3% des cas, l'association des deux dans 0,7% des cas, tandis que 2,7% des cas sont négatifs. Sp, Sa et Hib ont été détectés dans le sang dans 1,9%, 1,9% et 1,1% des cas respectivement chez 861 enfants et dans les PNP dans 88,2%, 6,9% et 12,9% des cas respectivement chez 821 enfants. Au moins une bactérie a été retrouvée dans les PNP chez 86,3% enfants. Le rhinovirus (23,3%), l'adenovirus (14,3%), le bocavirus (11,5%) et les VRS A et B (10,1%) étaient les pathogènes viraux le plus fréquemment rencontrés dans les PNP. Au moins un virus a été retrouvé dans les PNP chez 75,3% enfants et 68,7% des enfants avaient une co-infection virus-bactérie. La forme homozygote SS de l'HbS a été retrouvée chez 2,5% des enfants analysés et la forme hétérozygote AS caractérisant le trait drépanocytaire dans 23,7%. L'analyse des marqueurs biologiques, notamment la CRP et la PCT, est en cours d'exploitation en vue d'établir une corrélation avec les types de pathogènes identifiés.

Bénéficiaires et impacts

Etablissement d'un diagnostic rapide des agents microbiens responsables de paludisme ou d'infections aiguës du tractus respiratoire inférieur dans le but d'une meilleure prise en charge du patient par l'ajustement du traitement. Tous les frais de prélèvement, d'analyses biologiques, et de traitement prescrit par le clinicien sont pris en charge par le projet. Les résultats de l'étude serviront à améliorer la prise en charge du paludisme et des infections aiguës du tractus respiratoire inférieur chez l'enfant de moins de 5 ans et leur prévention.

Soutien financier

Fondation Mérieux.

⁸Kulozik AE *et al.* Br Haematol. 1988;70:455-8

Etude épidémiologique-clinique de la lèpre dans la région Analamanga, Antananarivo

Contexte & justification

La lèpre est une maladie bactérienne chronique due à *Mycobacterium leprae* qui constitue encore un grand problème de santé publique mondial. A Madagascar, malgré l'existence du Programme National de Lutte contre la Lèpre (PNLL) et la poly-chimiothérapie disponible depuis environ 20 ans, l'élimination n'est pourtant toujours pas effective et de nouveaux cas de lèpre sont régulièrement dépistés. Le diagnostic biologique repose actuellement uniquement sur la microscopie qui présente des lacunes devant les pauci infections et qui nécessite du personnel formé. La surveillance des échecs thérapeutiques est par contre basée sur la clinique bien que plusieurs mutations génétiques responsables des résistances thérapeutiques ont déjà été décrites. Devant ce contexte, il apparaît important de réaliser une étude clinique et bactériologique utilisant les nouveaux outils de diagnostic moléculaire pour contribuer à l'amélioration du diagnostic et à la prise en charge de la lèpre à Madagascar.

Objectifs

Principal :

- Evaluer la prise en charge clinico-biologique de la lèpre dans la région Analamanga et par extension dans l'ensemble de Madagascar.

Secondaires :

- Décrire l'aspect clinique de la lèpre dans la région Analamanga.
- Estimer la prévalence de la lèpre dans la région Analamanga en utilisant les techniques de biologie moléculaire en complément de la clinique et de la microscopie.
- Déterminer la sensibilité de *M. leprae* aux antibiotiques (rifampicine, fluoroquinolones et dapsone).

Méthodologie et résultats

Il s'agit d'une étude prospective à visée descriptive qui a démarré le 01/01/2012 et qui se poursuit en 2014. Les cas cliniques ont été recrutés dans le service de dermatologie de l'HUJRB, Antananarivo lors de missions d'investigations menées dans la région Analamanga mais aussi dans d'autres régions. Des prélèvements de suc de l'oreille et de biopsies cutanées sont effectués et la présence de *M. leprae* est recherchée par examen direct après coloration de Ziehl Neelsen et par PCR ciblant une séquence répétée du génome⁹ et des gènes de résistance de la bactérie aux antilépreux¹⁰ avec la trousse *GenoType LepraeDR* (Hain Lifescience, Germany). La sensibilité des souches de *M. leprae* à la rifampicine (RMP), les fluoroquinolones (FLQ) et la dapsone (DAP) a été évaluée.

Depuis le début de l'étude et jusqu'à décembre 2013, un total de 21 échantillons (4 prélèvements de suc de l'oreille et 17 biopsies cutanées) correspondant à 16 patients ont été investigués. Cliniquement, 12 patients se présentaient sous la forme de lèpre lépromateuse, 3 de lèpre tuberculoïde et 1 forme n'a pas été précisée. Treize cas étaient de nouveaux patients, 2 cas une réaction lépreuse et 1 cas une rechute. Selon la classification de l'OMS, 12 cas étaient une lèpre multibacillaire et 4 cas une lèpre paucibacillaire. L'examen direct sur lame après coloration était positif pour 3 échantillons de suc de l'oreille sur 4 (75%) et positif pour 10 biopsies cutanées sur 17

⁹ Yoon KH *et al.* J Clin Microbiol 1993;31(4):895-9

¹⁰ Cambau E *et al.* PLoS Negl Trop Dis 2012, 6(7): e1739. doi:10.1371/journal.pntd.0001739

(58,8%). L'échantillon de suc de l'oreille négatif a été retrouvé positif sur biopsie cutanée, tandis que sur les 3 autres échantillons de suc de l'oreille positifs, 2 sont positifs et un négatif après examen direct de la biopsie cutanée. Un faible rendement de la PCR a été observé avec l'amplification d'une séquence répétée du génome (3 positifs sur 17 extraits d'ADN de *M. leprae* à partir de biopsies cutanées). La sensibilité de *M. leprae* aux antiléproux a été évaluée à partir de 11 échantillons de biopsies cutanées ou de suc de l'oreille positifs à l'examen direct : 9 échantillons correspondant à 8 patients sont sensibles à RMP, FLQ et DAP, un échantillon n'a pu être amplifié et un autre échantillon est en cours d'investigation supplémentaire. Au total, la présence de *M. leprae* a pu être établie par au moins l'une des 3 techniques diagnostiques chez 10 patients sur 16. L'étude se poursuivra en 2014 dans le but d'agrandir la taille de l'échantillon pour une analyse clinico-épidémiologique plus précise mais aussi d'affiner les méthodes diagnostiques.

Bénéficiaires et impacts

Etablissement d'un diagnostic moléculaire pour la détection des mycobactéries responsables de la lèpre et identification des souches de *M. leprae* résistantes à la rifampicine en circulation permettant au clinicien d'adapter le traitement antibiotique pour une meilleure prise en charge de son patient.

Tous les frais de prélèvement et d'analyses biologiques sont couverts par le projet et le traitement prescrit par le clinicien est pris en charge par le PNLL. Les résultats de l'étude serviront à améliorer le diagnostic clinique de la lèpre ainsi que la prise en charge des nouveaux cas ou des cas de rechute de lèpre dans la région Analamanga. La conscientisation des acteurs de santé à la présence de la lèpre dans la région d'Antananarivo permettra également de prévenir sa dispersion. Cette étude menée en collaboration avec le PNLL soutient les efforts des différents partenaires de santé visant l'élimination de la lèpre à Madagascar.

Soutien financier

Fondation Mérieux.

Etude pilote de la surveillance des mycoses tropicales profondes (sporotrichose – chromomycose – mycétome) à Madagascar

Contexte & justification

Bien que rapportées par plusieurs auteurs à Madagascar, très peu de données sur les mycoses tropicales profondes sont disponibles. Une surveillance épidémiologique intensive menée par l'Institut Pasteur de Madagascar de 1955 à 1994 a permis de collecter l'essentiel des données sur ces infections, faisant de Madagascar le plus important foyer d'infections fongiques du monde. Toutefois, les données sont maintenant obsolètes car datant de plus de 20 ans. Malgré cette forte endémicité supposée et la prévalence de ces mycoses à Madagascar, ces infections restent encore négligées et les moyens alloués pour leur diagnostic, leur surveillance ou encore leur prévention sont insuffisants.

L'infection par ces mycoses se développe généralement dans les tissus sous-cutanés des parties découvertes (bras et jambes), après blessure avec souillure tellurique ou après introduction accidentelle d'un végétal (écharde). Le traitement, souvent long, parfois plusieurs années, et coûteux reste inaccessible pour les populations rurales vivant en zone d'endémie.

Le diagnostic biologique repose essentiellement sur l'examen direct et la mise en culture des agents infectieux. Toutefois, l'utilisation des outils de la biologie moléculaire permet aujourd'hui d'améliorer le diagnostic étiologique des mycoses tropicales par l'identification précise des champignons impliqués.

Objectifs

Principal :

- Identifier les agents mycosiques responsables des mycoses tropicales profondes en circulation à Madagascar par diagnostic moléculaire.

Secondaires :

- Mettre en place la culture pour le diagnostic biologique.
- Etablir un volet environnemental permettant d'établir le lien direct entre la végétation et le développement des lésions.
- Etablir le cycle des mycoses.
- Mettre en place une prévention destinée aux personnes exposées au risque d'infection.

Méthodologie et résultats

Il s'agit d'une étude prospective à visée descriptive qui a démarré le 01/01/2012 avec la collaboration du service de dermatologie de l'HUJRB, Antananarivo. Les cas cliniques ont été recrutés dans diverses régions de Madagascar lors de missions d'investigations et de consultations avancées combinées avec la mission lèpre. Le recrutement effectif des patients a commencé début 2013. Au total, 26 prélèvements de biopsies de lésions (n=14), de pus (n=5) et de squames (n=7) ont été réalisés chez 16 patients. La moyenne d'âge des patients est de 33 ans (9 à 64 ans), pour la plupart des agriculteurs vivant en zones rurales. Le diagnostic clinique avancé lors de la première consultation est : chromomycose (n=5), sporotrichose (n=5), chromomycose ou sporotrichose (n=1), mycétome (n=1), mycoses non identifiées (n=4). L'évolution des lésions date de moins de 1 année à plusieurs années. Le diagnostic de laboratoire repose sur l'examen à l'état frais des prélèvements, un examen direct après coloration (Giemsa et Gram) et une mise en culture sur milieu de Sabouraud-

Chloramphénicol avec ou sans cycloheximide à 25°C et 30°C. Les cultures positives sont examinées macroscopiquement et les images sont partagées avec le labo de Parasitologie-Mycologie de l'Institut de Biologie et de Pathologie du CHU de Grenoble pour une interprétation plus fine. Le départ de la biologiste qui a été formée au diagnostic des mycoses profondes est venu perturber le fonctionnement du projet. Le recrutement partiel d'une autre biologiste ayant une connaissance et une expérience en mycologie est en cours et une formation appuyée par un expert international est prévue en juin 2014 au CICM avant la mise en place d'outils moléculaires d'identification des pathogènes dans le cadre d'une thèse. L'étude se poursuit en 2014 avec une extension possible à un projet de recherche à plus vaste échelle sur les mycétomes.

Bénéficiaires et impacts

Etablissement du diagnostic moléculaire des principaux pathogènes responsables des mycoses tropicales profondes à Madagascar permettant au clinicien d'adapter le traitement pour une meilleure prise en charge de son patient. Tous les frais de prélèvement, d'analyses biologiques, ainsi que l'hospitalisation et le traitement prescrit par le clinicien sont pris en charge par le projet. Les résultats de l'étude serviront à améliorer la prise en charge des mycoses tropicales profondes et leur prévention.

Soutien financier

Fondation Mérieux.

Activités de service et de support

Surveillance des méningites à *Haemophilus influenzae* et des méningites bactériennes pédiatriques dues à *Neisseria meningitidis* et *Streptococcus pneumoniae* (Hib-MBP) chez les enfants de moins de 5 ans

Contexte & justification

La méningite d'origine bactérienne est une maladie infectieuse transmise par contact étroit avec une personne infectée (salive, sécrétions nasales ou postillons). Elle touche principalement les enfants de moins de 5 ans et peut évoluer rapidement, engageant le pronostic vital si elle n'est pas diagnostiquée à temps. *Haemophilus influenzae* (Hib), *Neisseria meningitidis* (Nm) et *Streptococcus pneumoniae* (Sp) sont les principaux agents pathogènes responsables de méningites bactériennes pédiatriques en Afrique subsaharienne. Elles peuvent se manifester sous forme épidémique, sans suivre un cycle régulier survenant toutefois préférentiellement en saison sèche dans les pays tropicaux. Seuls les méningocoques sont responsables des épidémies de méningite.

A l'initiative de l'OMS et dans le cadre d'un programme mondial, la surveillance des méningites bactériennes pédiatriques a démarré en avril 2011 à Madagascar en sélectionnant selon des critères définis, un site sentinelle de surveillance basé à l'Hôpital Universitaire Mère Enfants de Tsaralalàna (HUMET), Antananarivo où se font le recrutement des patients et le diagnostic biologique. Le CICM intervient dans l'appui au diagnostic et à la formation des biologistes.

Objectifs

Principal :

- Identification des agents bactériens responsables des méningites chez les enfants hospitalisés à l'HUMET afin de déterminer sa prévalence.

Secondaires :

- Développer et valider un diagnostic moléculaire en complément de la culture pour aider la prise en charge des enfants hospitalisés.
- Déterminer les sérotypes des agents bactériens identifiés en circulation.
- Identifier et caractériser les éventuels nouveaux variants bactériens ou agents infectieux responsables des méningites dont l'étiologie est inconnue.
- Evaluer l'impact de la vaccination sur l'épidémiologie de méningites bactériennes associées à ces agents pathogènes.

Méthodologie et résultats

Tous les enfants de moins de 5 ans répondant à la définition standard des cas¹¹ bénéficient d'un prélèvement de LCR. Dans le laboratoire du site sentinelle HUMET, les tests suivants sont réalisés : recherche de *N. meningitidis* A, B/E, coli K1, C, Y/W135, Hib, *S. pneumoniae* et streptocoques du

¹¹Apparition soudaine de fièvre: température axillaire > 38°C ou température rectale > 38°C, ET un ou plusieurs des symptômes cliniques de méningite suivants : convulsions autres que convulsions fébriles, raideur de la nuque, gonflement de la fontanelle, faible succion, altération de la conscience, irritabilité, autres signes méningé : aspect toxique ou pétéchies ou purpura

groupe B par méthode d'agglutination au latex (réactifs Pastorex méningite, BIO-RAD) ; culture bactérienne sur milieux gélosés enrichis à 5% de sang de mouton. Dans le laboratoire du CICM, *Sp* et *Hib* sont détectés par PCR multiplex en temps réel, suivi d'un sérotypage pour *Sp*. Les échantillons de LCR sont envoyés au Centre de Référence Régional du National Institute for Communicable Diseases (NICD), Johannesburg, Afrique du Sud et au LPE, Lyon, France pour contrôle de qualité.

Pendant la période d'avril 2012 à décembre 2013, un total de 1624 échantillons de LCR a été analysé par le laboratoire du site sentinelle. Le CICM a commencé à recevoir des échantillons de LCR depuis août 2013 (n=216). Dans ce rapport sont présentés les résultats obtenus à partir de l'analyse de ces échantillons. Par technique d'agglutination au latex, 33 échantillons (15,3%) sont positifs pour *Sp*, 2 (0,9%) pour le streptocoque du groupe B, 1 (0,5%) pour *Nm B/E coli* et aucun pour *Hib*. Après culture bactérienne, 15 (6,9%) échantillons sont positifs (14 *Sp* et 1 *Sa*) et le reste est négatif. Le sérotypage de *Sp* a permis d'identifier les sérotypes 1 (n=2), 5 (n=2), 1/23F (n=4), 10 (n=1), 12F (n=2), 15BC (n=1), 23F (n=2), 35A (n=2) et 35F (n=1), tandis que 9 souches confirmées comme étant *Sp* n'ont pu être typées. Les souches de sérotype 10, 12F, 15BC, 35A et 35F n'entrent pas dans la composition du vaccin conjugué antipneumococcique PCV10 distribué par le Programme Elargi de Vaccination (PEV) de routine à Madagascar. L'étude se poursuit en 2014 avec un accent particulier sur l'organisation du travail entre l'HUMET et le CICM notamment dans son aspect financier et une extension possible à la recherche de l'étiologie virale des méningites et méningoencéphalites.

Bénéficiaires et impacts

Etablissement d'un diagnostic du germe responsable de la méningite permettant au clinicien d'adapter le traitement antibiotique pour une meilleure prise en charge de son patient. Tous les frais de prélèvement et d'analyses biologiques sont pris en charge par le projet. Les résultats de l'étude serviront à améliorer la prise en charge des méningites et leur prévention (vaccination) chez l'enfant de moins de 5 ans.

Soutien financier

OMS et Fondation Mérieux.

Surveillance des diarrhées à rotavirus chez les enfants de moins de 5 ans

Contexte & justification

Les diarrhées aiguës sévères ayant comme agents pathogènes les rotavirus sont parmi les principales causes de décès chez les enfants de moins de 5 ans dans le monde. Ainsi, 125 millions de diarrhées sont provoquées par ce virus chaque année et près de 527 000 enfants en décèdent dont 85% en Afrique et en Asie. Problème de santé publique important, tous les enfants peuvent être concernés indépendamment de leur milieu culturel et de leur situation économique. La voie de transmission est oro-fécale, directe ou indirecte, et les souches impliquées varient selon les pays et les régions biogéographiques. Les épidémies de diarrhées à rotavirus sont généralement en superposition avec les épidémies de maladies respiratoires mettant en difficulté les services de pédiatrie.

A l'initiative de l'OMS, une surveillance des diarrhées a démarré en 2012 à l'Hôpital Universitaire Mère-Enfant de Tsaralalana (HUMET) afin de déterminer la part des rotavirus dans les diarrhées touchant les enfants hospitalisés de moins de 5 ans.

Objectifs

Principal :

- Déterminer la prévalence du rotavirus dans la survenue de diarrhées aiguës chez les enfants hospitalisés à l'HUMET.

Secondaire :

- Valider un outil de diagnostic rapide en complément de l'ELISA, technique de référence de l'OMS actuellement.

Méthodologie et résultats

Tous les enfants de moins de 5 ans hospitalisés pour diarrhée évoluant depuis moins de 7 jours bénéficient d'un prélèvement de selles dans les 48 heures suivant l'admission. La détection du rotavirus est effectuée par technique immuno-enzymatique ELISA utilisant les réactifs ProSpec™ Rotavirus (Oxoid, Ltd, Royaume-Uni) qui ciblent la protéine de capsid VP6 présente dans les rotavirus du groupe A. Les analyses ont été effectuées au CICM. Un total de 339 échantillons a été collecté depuis 2012 dont 42,8% de prélèvements positifs (n=145). L'étude se poursuit en 2014 avec un accent particulier sur le renforcement de l'aspect organisationnel et financier du programme.

Bénéficiaires et impacts

Les résultats de l'étude serviront à améliorer la prise en charge des diarrhées aiguës avec l'introduction du vaccin chez l'enfant.

Soutien financier

OMS et Fondation Mérieux.

Etude multicentrique de la surveillance de la fièvre typhoïde en Afrique sub-saharienne - TSAP (*Typhoid Fever Surveillance Program in Sub-Saharan Africa*)

Contexte & justification

La fièvre typhoïde (FT), infection systémique causée par *Salmonella enterica* sérotype Typhi (*S. Typhi*), reste un problème de santé publique dans les pays à faible revenu. *S. Typhi* est responsable d'environ 22 millions de cas d'infections symptomatiques par an avec 220.000 décès dans le monde. L'homme est le seul hôte et réservoir naturel de *S. Typhi* et la maladie survient principalement dans les milieux où les conditions d'hygiène sont précaires du fait de la défaillance des systèmes d'approvisionnement en eau potable et des systèmes d'assainissement.

Le manque de données fiables sur la FT dans de nombreux pays africains, a également limité les actions de sensibilisation des cliniciens et autres acteurs de la santé vis-à-vis de la maladie. La plupart des maladies qui s'accompagnent de fièvre sont le plus souvent diagnostiquées uniquement sur la base des signes et symptômes cliniques. En conséquence, il peut se poser de problèmes de diagnostic différentiel avec d'autres infections graves fréquentes en Afrique tel que le paludisme. Par conséquent, un programme multicentrique de surveillance standardisée de la FT en Afrique sub-saharienne est absolument nécessaire.

Objectifs

Principal :

- Obtenir des données d'incidence comparables de la fièvre typhoïde et des salmonelloses invasives non typhoïdes (SNT) en Afrique sub-saharienne grâce à une surveillance standardisée dans plusieurs pays.

Secondaire :

- Etablir des données normalisées sur les maladies et les mortalités liées à la fièvre entérique en Afrique sub-saharienne.
- Plaidoyer pour le contrôle de la fièvre typhoïde et la politique de prévention par la vaccination.

Méthodologie et résultats

Tous les patients hospitalisés fébriles ou ayant eu des antécédents de fièvre dans les 72 heures précédentes, indépendamment de l'âge, admis à l'hôpital de Fenoarivo seront inclus. Chaque patient en consultation externe fébrile, indépendamment de l'âge, qui se présente à l'hôpital de Fenoarivo ou au Centre de Santé de Base Niveau II d'Imerintsiatosika sera inclus. Le nombre de patients en consultation externe à inclure est limité par la capacité de l'automate utilisé pour les hémocultures (2600 bouteilles/an) et le nombre de patients hospitalisés. Les résultats préliminaires ont été résumés avec le tableau suivant :

Sites	Nombre de patients	Hémocultures positives
CHU Tsaralalana	584	81 (13,87%)
CSBII Isotry	2085	204 (9,78%)
CHU Fenoarivo	120	3 (2,50%)
CSBII Fenoarivo	156	7 (4,48%)
CSBII Imerintsiatosika	1495	37 (2,47%)
Total	4440	332 (7,48%)

Activités de formation

Le Centre d'Infectiologie Charles Mérieux s'implique fortement dans la formation des scientifiques en recherche mais également dans la formation initiale. En 2011, un projet impliquant 4 pays de l'ACP Afrique Caraïbe Pacifique a permis de répondre à cet objectif avec la formation de 210 scientifiques dans 7 modules indispensables pour le montage de recherche de qualité dans les pays à forte prévalence infectieuse.

Titre	Projet AFRICARAMI
Date de début	03/2009
Date de la fin	04/2013
Responsable	Dr Ratsimbasoa Arsène
Courriel du responsable	aratsimbasoa@gmail.com
Domaine	Formation médicale continue en recherche
Lieu	CICM
Financement	Union Européenne – Fondation Mérieux
Partenaires	Laboratoire des Pathogènes Emergents, Lyon Cameroun, Haïti, Madagascar, Mali

Le projet AFRICARAMI (Soutien à la lutte contre les Maladies Infectieuses en Afrique, et Caraïbe) s'intègre dans le programme Afrique Caraïbe Pacifique (ACP) pour la science et la technologie.

Objectif

Principal :

- Renforcer les capacités locales de recherche dans le domaine de la tuberculose multi-résistante et des infections respiratoires basses aigues.

Secondaire :

- Renforcer les capacités scientifiques et technologiques dans quatre pays ACP (Cameroun, Haïti, Madagascar, Mali) afin qu'ils puissent développer une recherche de qualité, mieux s'intégrer dans les réseaux de recherche internationaux et appliquer les résultats de recherche les plus pertinents pour le pays.

Type de projet

C'est un projet multicentrique coordonné par la cellule internationale auprès de la Fondation Mérieux Lyon depuis 2009. Ce projet implique 4 pays de l'ACP : Cameroun, Haïti, Madagascar et Mali. Pour chaque partenaire, la cellule projet national est composée d'un coordinateur national, d'un gestionnaire local et d'un assistant de coordination. A Madagascar, le partenaire est la Faculté de Médecine d'Antananarivo.

Activités

La mise en œuvre du projet comprend 4 activités :

Activité 1 : Rédaction du module de méthodologie statistique et épidémiologie avec le département de Santé publique de la Faculté de Médecine d'Antananarivo et l'Université de Bordeaux 2.

Activité 2 : Formation en Biologie Moléculaire.

Activité 3 : Mise en place d'un comité consultatif sur les infections respiratoires.

Activité 4 : Préparation d'un atelier sur les infections respiratoires.

Activité 5 : Organisation des différents modules de formation à savoir statistique et épidémiologie, Assurance qualité, Gestion des activités de recherche, Techniques de laboratoire, Logiciel de gestion des données de laboratoire, Recherche de financement extérieur, Bioinformatique.

Résultats

Deux cent dix scientifiques malgaches ont pu bénéficier des formations dispensés dans le cadre de ce projet avec des médecins cliniciens, des biologistes, des spécialistes en santé publiques et des techniciens. Les sessions et les nombres de formés sont résumés dans ce tableau.

Tableau I : Nombre de session et nombre des formés avec les modules du projet AFRICARAMI.

Intitulé	Nombres des sessions	Nombre de femmes	Nombre d'hommes	Total
Statistique/épidémiologie	5	23	37	60
Assurance qualité	1	12	10	22
Gestion des activités de recherche	3	17	28	45
Techniques de laboratoire	6	9	10	19
Logiciel de gestion des données de laboratoires	1	0	2	2
Recherche de financement extérieur (présentations en anglais)	3	18	27	45
Bioinformatique	1	10	7	17
Total	20	89	121	210

AUTRES FORMATIONS

Type de formation	Année	Informations
TP bactériologie	2012	14 techniciens de laboratoires régionaux en partenariat avec le ministère de la Santé Publique (financement AFD <i>via</i> le Ministère de la Santé Publique)
TP immunologie	2012	14 techniciens de laboratoires régionaux en partenariat avec le ministère de la Santé Publique (financement AFD <i>via</i> Ministère de la Santé Publique)
Formation	2011 2 sessions	Formation pour les écoles de techniciens de laboratoire
TP Parasitologie	2012	20 techniciens de laboratoire - Recyclage en microscopie pour le diagnostic du paludisme - Improving Malaria Diagnostics, Madagascar (IMaD) - USAID

Produits scientifiques

Publications

Hoffmann J, Rabazanahary H, Randriamarotia M, Ratsimbasoa A, Najjar J, Vernet G, Contamin B, Paranhos-Baccalà G. Viral and atypical bacterial etiology of acute respiratory infections in children under 5 years old living in a rural tropical area of Madagascar. PLoS One, 2012;7(8):e43666. doi: 10.1371/journal.pone.0043666. Epub 2012 Aug 17.

Komurian-Pradel F, Grundmann N, Siqueira MM, Chou M, Diallo S, Mbacham W, Paboriboune P, Russomando G, Nymadawa P, Sarkis DK, Samison LH, Wang J, Pape JW, Paranhos-Baccalà G, Vernet G. Enhancing research capacities in infectious diseases: The GABRIEL network, a joint approach to major local health issues in developing countries. Clinical Epidemiology and Global Health, Volume 1, Issue 1, April 2013, Pages 40–43.

Communications orales

Samison LH, Rabazanahary H.
Centre d'Infectiologie Charles Mérieux : Activités et plateau technique.
Evènement : SOMABIO
Date : 29-30 Novembre 2012.
Lieu : Antananarivo, Madagascar.

Maeder MN, Rabazanahary HM, Tseheho H, Nivoarisoa O, Randriatiana Raelina M, Vernet G, Contamin B, Paranhos-Baccalà G.
Surveillance des fièvres et part imputable au paludisme chez les enfants de 2 à 59 mois à Ampasimanjeva, Madagascar.
Evènement : Congrès de la Société Africaine de Parasitologie.
Date : 18-20 Décembre 2012.
Lieu : Dakar, Sénégal.

Zafindraibe NJ, Rabazanahary H, Rakoto Andrianarivelo M, Contamin B, Samison LH.
Pneumonia Multicentric Pilot Study: Madagascar preliminary results.
Evènement : 6th annual GABRIEL Network Meeting.
Date : 10–13 Décembre 2013.
Lieu : Annecy, France.

Communications affichées

Rabazanahary H, Hoffman J, Contamin B, Randriamarotia M, Ratsimbasoa A, Paranhos-Baccalà G.
Viral etiology of community-acquired acute lower respiratory infections in children under five years in Ampasimanjeva, District of Madagascar.
Evènement : 7th European Congress on Tropical Medicine and International Health.
Date : 3-6 Octobre 2011.
Lieu : Barcelone, Espagne.

Contamin B, Rabezanarahy H, Hoffmann J, Ratsimbasoa A, Vernet G.

The Center of Infectiology Charles Mérieux in Madagascar (CICM) : a tool to fight against infectious diseases.

Evènement : 7th European Congress on Tropical Medicine and International Health.

Date : 3-6 Octobre 2011.

Lieu : Barcelone, Espagne.

Zafindraibe NJ, Rakotoarivo AT, Rasamoelina T, Raoelina Randriatiana M, Randriamanantenasoa N, Rakoto Andrianarivelo M, Contamin B, Rakoto-Alson OA.

Prévalence de la drépanocytose chez des enfants fébriles âgés de 2 à 59 mois à Ampasimanjeva (Madagascar).

Evènement : 2^{ème} Journée Nationale de Biologie Clinique (Société Malgache de Biologie SOMABIO).

Date : Décembre 2013.

Lieu : Antananarivo, Madagascar.

Thèses et mémoires

Le Centre d'Infectiologie Charles Mérieux participe également dans la formation du 3^{ème} cycle en assurant l'encadrement de travaux de recherche. Le tableau suivant montre les nombres d'encadrement pour chaque type de soutenance.

Thèse de sciences (Epidémiologie clinique) co-tutelle (Bordeaux)	1	2011
Mémoire de spécialisation de Biologie	2	2012
Thèse de Médecine	2	2011-2012
DEA	1	2012
Master 2 de recherche (Montpellier)	1	2012
Master en Santé Publique et Communautaire	4	2011