

# CENTRE D'INFECTIOLOGIE CHARLES MERIEUX CICM



## RAPPORT D'ACTIVITES 2014



Centre d'Infectiologie Charles Mérieux  
Université d'Antananarivo  
BP 4299  
Antananarivo 101  
Madagascar  
Courriel : [mala@cicm-madagascar.com](mailto:mala@cicm-madagascar.com)  
Site web : [www.cicm-madagascar.com](http://www.cicm-madagascar.com)  
Tél : +261 20 26 410 17

## Sommaire

	Page
Introduction .....	3
Organigramme 2014-2015 .....	4
Attribution des membres du personnel.....	5
Collaboration et partenariat .....	6
Activités de recherche.....	7
Mycoses sous-cutanées tropicales.....	7
Cryptococcose et VIH .....	9
Papillomavirus humains et cancers du col .....	10
Activités de support .....	12
Etiologie des diarrhées pédiatriques : regards croisés sur l'homme et l'animal .....	12
Diagnostic moléculaire et étude de la sensibilité de <i>Mycobacterium leprae</i> .....	14
Surveillance des méningites bactériennes pédiatriques.....	15
Surveillance des diarrhées à rotavirus .....	16
Activités de formation.....	17
Bioéthique .....	17
Cours d'Epidémiologie et Statistiques .....	17
Travaux Pratiques.....	17
Système Informatisé de Gestion .....	17
Mémoires .....	17
Produits scientifiques.....	18
Publications .....	18
Communications orales.....	18

## Introduction

Le Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM) est un centre de recherche public à but non lucratif régi par une convention tripartite entre le Ministère de la Santé, l'Université d'Antananarivo et la Fondation Mérieux. Ouvert en 2010, sa mission principale est d'accompagner le développement de la recherche et de la formation sur les maladies infectieuses et d'apporter un appui technique et logistique aux laboratoires de biologie médicale des hôpitaux publics. Le rattachement du CICM à l'Université d'Antananarivo facilite les échanges et les collaborations scientifiques avec la Faculté de Médecine, la Faculté des Sciences, l'Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, mais aussi avec les unités cliniques des CHU d'Antananarivo. Ces collaborations sont concrétisées, entre autres, par la mise à disposition au CICM d'un interne qualifiant du Département de Biologie de la Faculté de Médecine en vue de préparer un mémoire de Diplôme d'Etudes de Formations Spécialisées (DEFS).

En 2014, le CICM a finalisé la rédaction de son Plan Stratégique quinquennal 2014-2018 et produit un premier rapport d'activités scientifiques combiné des années 2011 à 2013. Le Conseil d'Orientation Stratégique annuel qui s'est tenu en février a encore été l'occasion d'évaluer ses activités. Le site web du CICM est actuellement disponible pour améliorer sa visibilité en matière de communication et d'information, et afin de favoriser les échanges avec les laboratoires régionaux, un serveur informatique central a été installé dans ses locaux cette année.

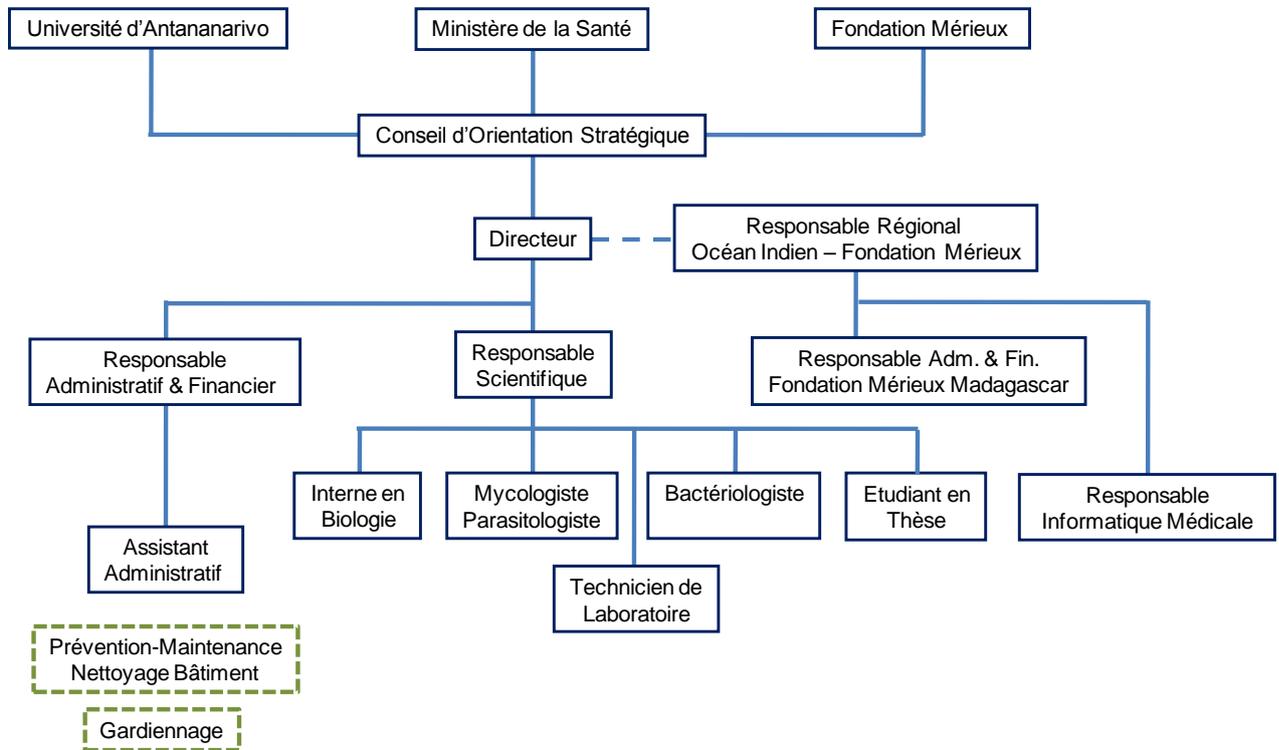
Sur le plan de la recherche, le CICM a finalisé en 2014 un pré-projet de surveillance des mycoses tropicales endémiques à Madagascar (chromoblastomycoses et sporotrichoses) qui entre actuellement dans sa phase de projet avec l'implication de l'USFR Rhumatologie-Dermatologie et un projet de thèse associé. Ce projet de surveillance est financé par la Fondation Mérieux. Dans un autre domaine, le CICM a obtenu un financement du programme de Partenariat des Pays Européens et en Développement sur les Essais Cliniques (EDCTP) pour étudier la prévalence et les facteurs de risque de cryptococcose chez les patients infectés par le VIH. Cette étude conduite avec le service des Maladies Infectieuses comprend également un programme de formation en Mastère 1 en Santé Publique. Enfin, un projet multicentrique de génotypage des papillomavirus humains dans les cancers du col a été initié par l'Institut National du Cancer (INCa) fin 2014 et associe cinq pays francophones d'Afrique subsaharienne dont Madagascar. Le CICM apporte également un appui technique substantiel aux activités de surveillance et de santé publique dirigées par le Ministère de la Santé comme la lèpre, les méningites bactériennes pédiatriques ou les diarrhées bactériennes de l'enfant.

Sur le plan de la formation, deux sessions de formation en Bioéthique financées par le NIH (National Institute of Health) ont été organisées en avril et novembre 2014 avec l'appui de l'Université de Caroline du Nord (Etats-Unis) et l'Université de Namur (Belgique). Le CICM a co-organisé avec le CIRAD des séances de travaux pratiques de bactériologie en février, un séminaire pratique de mycologie avec l'Université de Grenoble en septembre et des cours de formation en épidémiologie et statistiques avec l'Université Lyon 1 en novembre.

Sur le plan des relations internationales, le CICM a reçu la visite du Vice-président de l'Union des Comores en charge de la santé pour cerner les domaines potentiels de coopération avec Madagascar ; l'équipe de Qualireg de la Réunion s'est également rendu dans nos locaux dans le but de déterminer les champs d'action de recherche potentiels dans le domaine de la sécurité alimentaire ; enfin, la représentante de l'Université de Leeds voudrait étendre les domaines d'intervention de son établissement sur les maladies infectieuses.

Pr Luc Hervé SAMISON  
Directeur du CICM

## Organigramme 2014-2015



<b>Attribution des membres du personnel</b>
---

Fonction	Nom et Prénoms	Courriel
<b>DIRECTION</b>		
Directeur	SAMISON Luc Hervé	<a href="mailto:samison@cicm-madagascar.com">samison@cicm-madagascar.com</a>
Responsable Administratif et Financier	RAJOELIMAHEFA Alida	<a href="mailto:alida@cicm-madagascar.com">alida@cicm-madagascar.com</a>
Assistante Administrative	RANDRIAMANANTENA Onja	<a href="mailto:onja@cicm-madagascar.com">onja@cicm-madagascar.com</a>
<b>PERSONNEL SCIENTIFIQUE</b>		
Responsable Scientifique	RAKOTO ANDRIANARIVELO Mala	<a href="mailto:mala@cicm-madagascar.com">mala@cicm-madagascar.com</a>
Représentante Régionale Fondation Mérieux	CONTAMIN Bénédicte	<a href="mailto:benedicte.contamin@fondation-merieux.org">benedicte.contamin@fondation-merieux.org</a>
Interne en Biologie	HARIOLY NIRINA Marie Osé Michaël	<a href="mailto:michael@cicm-madagascar.com">michael@cicm-madagascar.com</a>
Mycologiste-Parasitologiste	RANDRIAMAMPIONONA Njary	<a href="mailto:njary@cicm-madagascar.com">njary@cicm-madagascar.com</a>
Bactériologiste	RASOANANDRASANA Saïda	<a href="mailto:rssaida@yahoo.fr">rssaida@yahoo.fr</a>
Etudiant en Thèse	RASAMOELINA Tahinamandranto	<a href="mailto:mandranto@cicm-madagascar.com">mandranto@cicm-madagascar.com</a>
Technicien de laboratoire	RAKOTOMALALA Fetra Angelot	<a href="mailto:angelot@cicm-madagascar.com">angelot@cicm-madagascar.com</a>
<b>PERSONNEL D'APPUI</b>		
Responsable Administratif et Financier Fondation Mérieux Madagascar	RAKOTOARISOA Luciana F.	<a href="mailto:luciana.rakotoarisoa@fondation-merieux.org">luciana.rakotoarisoa@fondation-merieux.org</a>
Responsable Informatique Médicale & Base de données	RATOVOHERY Andry	<a href="mailto:andry.ratovohery@cicm-madagascar.com">andry.ratovohery@cicm-madagascar.com</a>
Responsable Prévention & Maintenance des Bâtiments	RAKOTOMAHEFA Navoko	<a href="mailto:navoko@cicm-madagascar.com">navoko@cicm-madagascar.com</a>
Technicien de surface	RALALAHARISOA Angeline	
Chauffeur coursier	RAKOTOARISOANIRINA Elysée	

<b>Collaboration et partenariat</b>
-------------------------------------

<b>Partenariat Scientifique</b>	
<b>National</b>	
CHU Mère Enfants, Tsaralalàna (CHUMET), Antananarivo	Pr Annick Robinson
USFR Dermatologie-Rhumatologie, HU Joseph Raseta Befelatanana, Antananarivo	Pr Fahafahantsoa Rabenja Rapelanoro Pr Lala Ramarozatovo
Service des Maladies Infectieuses, HU Joseph Raseta Befelatanana, Antananarivo	Pr Mamy Jean de Dieu Randria Pr Andry Rivonirina Rakotoarivelo Dr Mihaja Raberanto
Département de Biologie, Faculté de Médecine, Antananarivo	Pr Olivat Rakoto-Alson
Programme National de Lutte contre la Lèpre (PNLL), Antananarivo	Dr Randrianantoandro Andriamira
Fondation Raoul Follereau Madagascar, Antananarivo	Dr Bertrand Cauchoix
Fondation Akbaraly, Madagascar	Mme Cynthia Akbaraly Dr Claudia Allegri Dr Henri Rakotomalala
<b>International</b>	
Laboratoire des Pathogènes Emergents (LPE), Fondation Mérieux, Lyon, France	Dr Glauca Paranhos-Bacalà
Parasitologie-Mycologie – Institut de Biologie et de Pathologie, CHU de Grenoble, France	Pr Muriel Cornet
Université Claude Bernard, Lyon 1, France	Pr Philippe Vanhems Dr Thomas Benêt
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
Bureau de la Représentation OMS pour Madagascar	Dr Samuel H. Andrianarisoa Dr Constance Razaiarimanga
Réseau GABRIEL ( <i>Global Approach to Biological Research, Infectious diseases and Epidemics in Low-income countries</i> )	Dr Florence Pradel
<b>Partenariat Financier</b>	
Fondation Mérieux, Lyon, France	
EDTCP ( <i>European &amp; Developing Countries Clinical Trials Partnership</i> )	
Institut National du Cancer (INCa), Paris, France	
Fogarty International Center	

## Activités de recherche

### Mycoses sous-cutanées tropicales

*Rasamoelina M<sup>a</sup>, Randriamampionona N<sup>a</sup>, Raberahona M<sup>b</sup>, Rakotomalala FA<sup>a</sup>, Rakoto Andrianarivelo M<sup>a</sup>, Contamin B<sup>a</sup>, Cornet M<sup>c</sup>, Ramarozatovo L<sup>d</sup>*

<sup>a</sup> Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM), Antananarivo ; <sup>b</sup> Service des Maladies Infectieuses, HU Joseph Raseta de Befelatanana (HUJRB), Antananarivo ; <sup>c</sup> Unité de Parasitologie-Mycologie, Institut de Biologie et de Pathologie, CHU de Grenoble ; <sup>d</sup> USFR Dermatologie-Rhumatologie, HUJRB, Antananarivo

### Introduction

Les chromoblastomycoses et les sporotrichoses sont endémiques à Madagascar. Ces mycoses se développent généralement dans les tissus sous-cutanés des parties découvertes (bras et jambes), après blessure et souillure tellurique ou introduction accidentelle d'un végétal (écharde). Les principaux agents pathogènes responsables de chromoblastomycoses sont les genres *Fonsecae* et *Cladophialophora* tandis que *Sporothrix* est à l'origine de la sporotrichose. En raison de leur principale répartition dans les pays en développement en touchant essentiellement les personnes vivant en zones rurales et tropicales, ces maladies sont qualifiées de négligées.

L'Unité de Parasitologie-Mycologie de l'Université de Grenoble a développé une stratégie basée sur la technologie PCR pour détecter les agents pathogènes responsables de ces mycoses sous-cutanées. Cette technique est actuellement appliquée à Madagascar en association avec les techniques classiques d'examen direct et de culture. Elle a fait l'objet d'une soutenance de mémoire en Master 2 de Recherche en 2014 avec une spécialisation en Ingénieries pour la Santé et le Médicament (Université de Grenoble).

### Objectifs

L'objectif principal est d'identifier les agents mycosiques responsables de chromoblastomycoses et de sporotrichoses à Madagascar en s'appuyant sur un diagnostic moléculaire. Les objectifs spécifiques sont d'estimer leur aire de répartition pour contribuer à améliorer la connaissance de ces pathologies et d'étudier les facteurs de risque en associant un volet environnemental.

### Méthodologie

Il s'agit d'une étude prospective commencée en janvier 2012 avec recrutement des patients lors d'investigations programmées de terrain et de consultations réalisées dans le service de dermatologie, HUJRB. Des échantillons de pus, de biopsies et de squames cutanés sont prélevés et examinés en microscopie avec et sans coloration au noir Chlorazole, puis ensemencés sur milieu de Sabouraud-Chloramphénicol à 30°C suivis d'une analyse microscopique et macroscopique. L'examen anatomopathologique complète l'étude.

La stratégie basée sur la technologie PCR a été validée sur des souches de référence *Cladophialophora carrionii*, *Fonsecaea compacta*, *Exophiala dermatitidis* et *Sporothrix schenckii*. Dans un premier temps, l'appartenance de l'échantillon à ce groupe est vérifiée avec les couples d'amorces universelles NL-1/NL-4<sup>1</sup> et ITS5/ITS4<sup>2</sup>. Dans un second temps, leur identité est précisée en

<sup>1</sup> Abliz P *et al.* FEMS Immunol Med Microbiol 2004;40(1):41-9

<sup>2</sup> White T *et al.* In MA Innes *et al.* (ed.). Academic Press, Inc., San Diego, California, 1990, pages 315–22

utilisant selon un algorithme défini les amorces spécifiques de *Fonsecaea sp.*<sup>3</sup>, de *S. schenckii*<sup>4</sup>, ou de *E. dermatitidis* (amorces créées lors de cette étude). Les résultats de l'amplification des ADN extraits des échantillons cliniques ont été comparés avec ceux des cultures.

## Résultats

Depuis le début de l'étude, 46 cas ont été recrutés dont 30 en 2014. Les résultats de 31 patients recrutés entre mars 2013 et mai 2014 sont présentés dans ce rapport (**Figure**). L'âge moyen des patients est de 36 ans avec une prédominance masculine (74,2%). Parmi eux, 42% sont des agriculteurs, 25% exercent d'autres activités libérales, 23% sont des étudiants et 10% sont sans emploi. Dans plus de 60% des cas, les lésions sont localisées au niveau des membres inférieurs à type d'ulcérations nodulaires majoritairement pour la sporotrichose et de lésions crouteuses, verruqueuses et tumorales pour la chromoblastomycose. L'examen mycologique a permis d'identifier 13 cas de sporotrichose, 6 cas de chromoblastomycose, 1 cas réagissant favorablement au sulfaméthoxazole-thrimétoprime est probablement un mycétome d'origine bactérienne, tandis que 11 cas sont négatifs. La PCR a permis d'identifier 7 cas de *Sporothrix sp.*, 1 cas de *Cladophialophora sp.*, 5 cas de *Fonsecaea sp.* tandis que le reste en cours d'investigation. Les prochaines étapes sont de compléter l'analyse des échantillons restants et d'effectuer une analyse plus fine de la spécificité des amorces vis à vis de nouvelles souches de référence de *Sporothrix sp.*

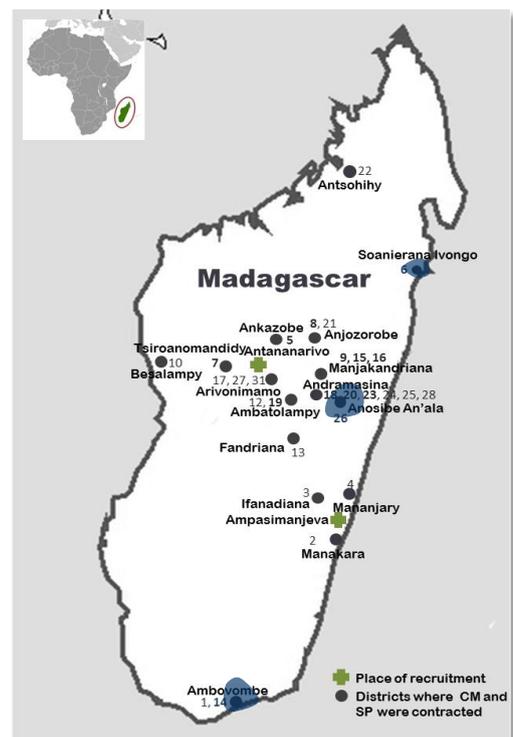
Ces résultats préliminaires confirment la persistance de chromoblastomycose et de sporotrichose à Madagascar à des fréquences élevées. L'étude se poursuivra en 2015 avec notamment l'inclusion d'un plus grand nombre de patients et une enquête environnementale qui vise à décrire le mode de propagation des agents pathogènes afin d'éviter leur contamination.

## Impacts

Du point de vue (i) diagnostique : disponibilité d'un test rapide qui permettra de confirmer l'étiologie de la mycose à un stade précoce de la maladie ; (ii) thérapeutique : prise en charge adaptée du patient ; (iii) santé publique : meilleure connaissance de l'épidémiologie des mycoses et mesures de lutte et de prévention adaptées.

## Soutien financier

Fondation Mérieux



**Figure.** Carte montrant la répartition des 31 cas de chromoblastomycose et de sporotrichose.

<sup>3</sup> Abliz P *et al.* J Clin Microbiol 2003; 41(2):873–6

<sup>4</sup> Kanbe T *et al.* J Dermatol Sci 2005;38(2):99–106

## Cryptococcose et VIH

Rakotoarivelo R<sup>a</sup>, Randriamampionona N<sup>b</sup>, Raberahona M<sup>a</sup>, Cornet M<sup>c</sup>, Benêt T<sup>d</sup>, Vanhems P<sup>d</sup>, Contamin B<sup>b</sup>, Rakoto Andrianarivelo M<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Service des Maladies Infectieuses de l'Hôpital Universitaire Joseph Raseta de Befelatanana (MI-HUJRB), Antananarivo ; <sup>b</sup> Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM), Antananarivo ; <sup>c</sup> Unité de Parasitologie-Mycologie, Institut de Biologie et de Pathologie, CHU de Grenoble ; <sup>d</sup> Laboratoire d'Epidémiologie et de Santé Publique, Université Claude Bernard Lyon 1

### Introduction

La cryptococcose est une mycose systémique mortelle pouvant toucher à la fois les patients infectés par le VIH et les sujets non infectés immunodéprimés. Elle est due au complexe *Cryptococcus neoformans* qui comprend 2 espèces : *C. neoformans* et *C. gattii*. Cette infection opportuniste grave survient dans 80 à 90% des cas chez les patients infectés par le VIH. Dans le monde, le nombre de nouveau cas de cryptococcose neuro-méningée (CM) est estimé à 1 million par an dont 720 000 en Afrique sub-saharienne et le décès attribué à la CM est de 625 000. A Madagascar, l'épidémiologie de la cryptococcose liée au VIH est peu documentée. En 2011, 850 patients infectés par le VIH étaient suivis dans le pays et près de 250 patients le sont actuellement dans le service des MI-HUJRB.

En septembre 2014, le programme de Partenariat pour les Pays Européens et en Développement sur les Essais Cliniques (EDCTP) a financé un projet d'étude sur la cryptococcose chez les patients infectés par le VIH. Le projet d'une durée de 2 ans inclus également un programme de formation en mastère 1 en santé publique à l'Université Paris Sud qui sera poursuivie par un mastère 2 en Epidémiologie et Analyse des Risques à l'Université Claude Bernard, Lyon. L'étude a obtenu l'aval du Comité National d'Ethique.

### Objectifs

Il s'agit d'une étude prospective dont l'objectif général est d'évaluer la prévalence et les facteurs de risque associés au complexe *C. neoformans* chez les patients infectés par le VIH. Les objectifs spécifiques sont de mettre à disposition du Programme National de Lutte contre le VIH/SIDA une méthode de diagnostic simple, rapide et fiable de la cryptococcose ; d'améliorer la prise en charge des patients ; et d'identifier les génotypes circulants de la cryptococque.

### Méthodologie

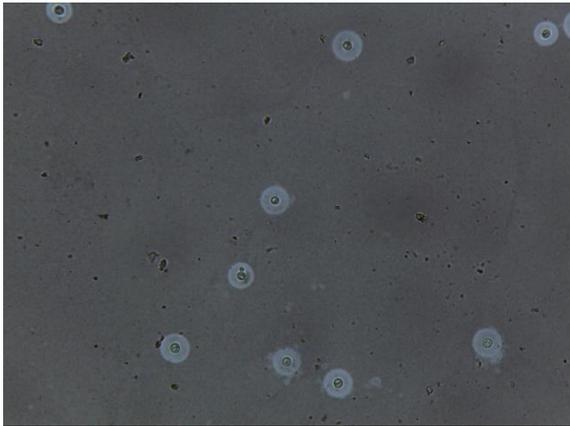
Les patients retenus (taux de CD4 < 200/mm<sup>3</sup>, adultes VIH et consentants) sont prélevés pour la recherche de l'antigène cryptococcique (AgCr) par méthode immunochromatographique (Immuno-Mycologics, Inc., OK, USA) dans le sang. Si la recherche est positive, le LCR est prélevé en présence de signes neuroméningés. Un examen direct à l'encre de Chine et une mise en culture sur milieu de Sabouraud-Chloramphénicol sans cycloheximide à 30°C sont effectués et la caractérisation plus approfondie des souches isolées est programmée. Des analyses statistiques compléteront l'étude.

### Résultats

De septembre 2014 à février 2015 (6 mois), un total de 26 cas suspects répondant aux critères d'inclusion a été investigué. L'âge moyen des patients est de 36 ans, le *sex ratio* F:H de 0,9 et le taux moyen de CD4 de 87/mm<sup>3</sup>. Un cas a été confirmé chez une femme mariée de 34 ans qui ignorait son statut VIH et qui a été admise pour une forte fièvre et des céphalées intenses. Le titre en AgCr du LCR est >640. L'examen direct après coloration à l'encre de Chine est positif (**Figure**) et la levure a été

isolée sur culture. La patiente est décédée 3 jours après son admission dans un tableau de méningo-encéphalite aiguë. L'analyse génétique de la souche est en cours. Ces résultats confirment que la cryptococcose est bien présente à Madagascar et peut tuer. Ils soulignent également l'importance capitale et prioritaire de renforcer le programme de lutte contre le VIH dans plusieurs domaines : campagnes de sensibilisation, dépistage systématique, mise en place effective d'un suivi clinique, thérapeutique et biologique (CD4 et charge virale VIH) des patients.

La priorité en 2015 est d'augmenter le recrutement des patients afin de mieux apprécier la prévalence et les facteurs de risque de la maladie.



**Figure.** *Cryptococcus sp.* vus au microscope après coloration à l'encre de Chine. Les particules du pigment de l'encre de Chine ne pénètrent pas la capsule polysaccharidique du cryptocoque et forment une zone éclaircie en « halo » autour des cellules sphériques de la levure (Source CICM).

## Impacts

Cette étude devra permettre de mettre à disposition du programme de lutte contre le VIH un diagnostic biologique précoce et fiable de la cryptococcose ; d'appuyer la mise en place d'un traitement adéquat des patients ; de mieux comprendre l'épidémiologie du complexe *C. neoformans* à Madagascar ; de servir de modèle pour la mise en place d'études similaires sur les autres infections opportunistes chez les patients infectés par le VIH ; et d'appuyer le suivi virologique (charge virale et résistance aux antirétroviraux) des patients.

## Soutien financier

Partenariat des Pays Européens et en Développement sur les Essais Cliniques (EDCTP)

## Papillomavirus humains et cancers du col

Rakotomalala H<sup>a</sup>, Harioly Nirina M<sup>b</sup>, Allegri C<sup>a</sup>, Contamin B<sup>b</sup>, Rakoto Andrianarivelo M<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Fondation Akbaraly, Antananarivo ; <sup>b</sup> Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM), Antananarivo

## Introduction

Le cancer du col de l'utérus est l'une des principales causes de mortalité par cancer au niveau mondial chez la femme avec près de 266 000 décès et 528 000 nouveaux cas en 2012<sup>5</sup>. Dans les pays

<sup>5</sup> WHO. Comprehensive Cervical Cancer Control. A guide to essential practice 2<sup>nd</sup> ed. World Health Organization 2014

en développement incluant ceux d'Afrique subsaharienne, il est la première cause de décès par cancer chez les femmes avec près de 231 000 décès en 2012. L'apparition du cancer du col est liée à certains types de papillomavirus humains (HPV) dits à « haut-risque » (essentiellement HPV 16 et 18) à l'issue de 10 à 20 années d'évolution de l'histoire naturelle de l'infection. Considéré à juste titre comme une maladie infectieuse, le cancer du col peut être prévenu par l'emploi d'un vaccin administré chez les filles avant la période d'activité sexuelle. A Madagascar

En janvier 2015 a eu lieu à Dakar, Sénégal une réunion de concertation entre les représentants du Cameroun, de la Côte d'Ivoire, du Gabon, de Madagascar et du Sénégal pour valider un projet multicentrique de génotypage des HPV associés aux cancers du col utérin. L'Institut National du Cancer (INCa), Paris en est le promoteur et l'Unité de Recherche en BioPathologie de l'Institut Curie le partenaire scientifique.

A Madagascar le projet est coordonné par la Fondation Akbaraly, une organisation humanitaire qui œuvre pour l'amélioration des conditions de vie de la population avec un accent particulier sur la santé de la femme et de l'enfant. Les activités virologiques sont exécutées au CICM.

## **Objectifs**

Il s'agit d'une étude prospective et rétrospective dont l'objectif principal est d'identifier les génotypes d'HPV intégrés dans le génome des cancers invasifs et les dysplasies de haut-grade du col utérin. Les objectifs spécifiques sont (i) de fournir des données épidémiologiques pouvant aider à la décision d'une campagne de vaccination, et (ii) de favoriser le développement d'un réseau de professionnels afin de potentialiser les ressources et les compétences et uniformiser les procédures de prise en charge du cancer du col

## **Méthodologie**

Dans un premier temps, nous analyserons rétrospectivement près de 100 biopsies fixées dans de la paraffine et correspondant à des cancers invasifs ou à des néoplasies intraépithéliales cervicales de grade 3. Les techniques virologiques d'extraction d'ADN et de PCR permettant de détecter HPV types 6, 11, 16, 18, 33, 45 et le genre HPV seront mises en place dans le courant du 2<sup>ème</sup> trimestre. Parallèlement 4000 patientes seront recrutées tout au long de l'étude dans les centres de santé de la Fondation Akbaraly pour subir un test de Papanicolaou. Dans cette étude prospective, près de 300 biopsies sont prévues pour l'anatomo-pathologie et la virologie. L'étude sera soumise au Comité National d'Éthique avant de commencer pour une durée de 2 ans.

## **Résultats attendus**

(i) Prévalence des principaux génotypes de HPV associés aux cancers infiltrant et aux néoplasies intra-épithéliales de haut grade du col utérin estimée ; (ii) Renforcement et coordination des compétences clinique, anatomopathologique et virologique en matière de HPV et cancers du col associés établis ; (iii) Rationalisation et homogénéisation des procédures, des contrôles qualité, de la veille technologique et de la diffusion de nouvelles indications d'analyse proposées ; (iv) Mise en commun des résultats selon un modèle structuré pour faciliter l'exploitation des résultats et servir de base au développement ultérieur d'un système de suivi épidémiologique des tumeurs en Afrique francophone (registre des cancers)

## **Soutien financier**

Institut National du Cancer (INCa), Paris, France

## Activités de support

### Etiologie des diarrhées pédiatriques : regards croisés sur l'homme et l'animal

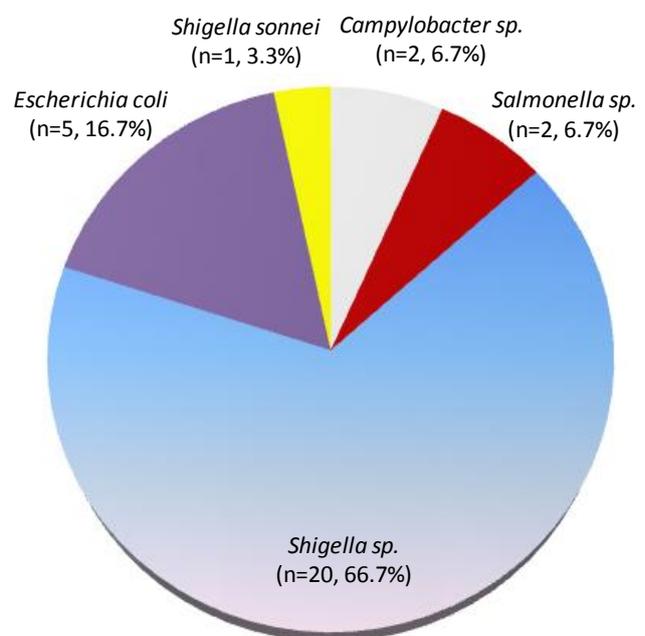
Razafindrakoto C<sup>a</sup>, Rahajamanana L<sup>b</sup>, Raboba L<sup>b</sup>, Rabenarivahiny R<sup>c</sup>, Cardinale E<sup>d</sup>, Robinson A<sup>b</sup>, Contamin B<sup>a</sup>, Rakoto Andrianarivelo M<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM), Antananarivo ; <sup>b</sup> Centre hospitalo-universitaire Mère-Enfants Tsaralalàna (CHUMET), Antananarivo ; <sup>c</sup> Direction des Services Vétérinaires (DSV) Itaosy, Antananarivo ; <sup>d</sup> Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), la Réunion

Les maladies diarrhéiques demeurent parmi les causes les plus importantes de mortalité et de morbidité infantile dans les pays en développement et plus particulièrement chez les enfants de moins de 5 ans. Les principales sources de contamination seraient d'origine hydrique d'une part (difficulté d'accès à l'eau potable) et d'origine alimentaire d'autre part. *Salmonelles* et *Campylobacters* sont les deux genres bactériens les plus fréquemment impliqués dans les maladies d'origine alimentaire dans les pays développés. Ils sont aussi impliqués dans les maladies diarrhéiques d'origine zoonotique. Dans les pays en développement comme Madagascar, les données sur l'impact de ces bactéries sur la santé publique sont peu documentées. Or, avec le développement exponentiel des filières avicoles et porcines, des informations précises seraient nécessaires pour permettre aux autorités publiques de prendre les mesures adéquates pour maîtriser les risques. En effet, les produits alimentaires issus de ces filières pourraient représenter un risque de contamination important.

Le CICM et le Département de la Recherche de la DSV ont développé ensemble un programme d'étude qui vise à (i) déterminer la prévalence de *Salmonella sp*, *Campylobacter sp* et *Shigella sp* dans les diarrhées infantiles chez des enfants hospitalisés ; (ii) évaluer la contamination des plats à base de volaille par le genre *Salmonella sp* et identifier ensuite les espèces et les sérotypes impliqués, et ; (iii) évaluer la résistance aux antibiotiques de ces bactéries communes à l'homme et l'animal.

De février à octobre 2014, un total de 111 enfants diarrhéiques hospitalisés a été étudié. L'âge moyen des enfants est de 25 mois, le *sex ratio* F:M de 0,7 et 36,9% (42) présentaient des signes de malnutrition. Le **tableau 1** résume les signes cliniques observés. La notion de prise antérieure d'antibiotiques peu de temps avant l'admission a été rapportée dans 45% (50) des cas. Après ensemencement sur milieu de culture, 26,1% (29) des selles étaient positives. L'utilisation des galeries API-20E (bioMérieux, France) a permis d'identifier *Escherichia coli* (n=5), *Salmonella sp.* (n=2), *Shigella sp.* (n=20), *Shigella sonnei* (n=1), et *Campylobacter sp.* (n=1) [Figure 1]. Les *Campylobacter sp.* ont été identifiés à l'examen direct après coloration de Gram et les tests catalase et oxydase.



**Figure 1.** Bactéries isolées chez les enfants diarrhéiques hospitalisés au CHUMET, jan.-oct. 2014

**Tableau 1** : Principaux signes cliniques observés chez les enfants diarrhéiques hospitalisés au CHUMET, jan.-oct. 2014

Signes cliniques	Nombre	%
Fièvre (n=109)	67	61,5
Vomissements (n=108)	63	58,3
Glaïres (n=111)	51	45,9
Douleurs abdominales (n=108)	42	38,9
Sang (n=111)	20	18,0
Toux (n=108)	17	15,7

Toutes les souches ont bénéficié d'un antibiogramme selon la technique standard de diffusion en milieu gélosé (ATB G-EU, bioMérieux, France). Pour *E. coli* (n=5), les gènes des entérotoxines n'ayant pas été recherchés, leur rôle dans la diarrhée n'est pas formellement prouvé. Concernant la résistance, les molécules les plus touchées sont le cotrimoxazole et les tétracyclines inefficaces pour 80% des souches. Quarante % des souches ont acquis une résistance à l'acide nalidixique mais restent sensibles aux fluoroquinolones, et une souche est sécrétrice de  $\beta$ -lactamase à large spectre (BLSE). Pour les *Shigelles* (n =21), les molécules les plus touchées par l'antibiorésistance sont les tétracyclines (95%) et le cotrimoxazole (84%), tandis que 66% des souches sont productrices de pénicillines de haut niveau (PHN). Aucune souche n'a acquis de résistance vis-à-vis des céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération. Les aminosides et quinolones restent tous sensibles pour ces souches. Pour les *Salmonelles* (n=2), elles sont épargnées par les phénomènes d'antibiorésistance pour toutes les classes sauf pour une souche vis-à-vis des tétracyclines et du cotrimoxazole. Les souches de *Campylobacter* (n=2) n'ont été testées qu'avec 5 antibiotiques (ampicilline, amoxicilline, gentamycine, tétracycline et ciprofloxacine) et sont sensibles à toutes ces molécules.

L'étude conduite sur 10 mois, initialement prévue pour étudier les bactéries responsables de zoonoses, n'a retrouvé que 13% de souches de *Salmonelles* ou *Campylobacter* et une majorité de *Shigelles* (77%). La résistance aux antibiotiques est prédominante pour deux classes d'antibiotiques : les tétracyclines et le cotrimoxazole. Une grande partie des souches sont également résistantes aux  $\beta$ -lactamines dont les pénicillines productrices de pénicillinase. Pour les souches d'*E. coli*, des résistances vis-à-vis des céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération commencent à apparaître mais les carbapénèmes conservent une activité intacte.

Cette étude a permis de contribuer à la mise en place de la coproculture au laboratoire CHUMET. Elle doit se poursuivre avec la comparaison des souches humaines et animales afin d'établir les relations entre infections à *Salmonelle* chez l'homme et le portage dans les filières animales.

Cette étude est financée par la Fondation Mérieux.

## Diagnostic moléculaire et étude de la sensibilité de *Mycobacterium leprae*

Razafindrakoto C<sup>a</sup>, Andrianarison A<sup>b</sup>, Rakotomalala A<sup>a</sup>, Contamin B<sup>a</sup>, Rakoto Andrianarivelo M<sup>a</sup>, Rapelanoro Rabenja F<sup>b</sup>, Ramarozatovo L<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM), Antananarivo ; <sup>b</sup> USFR Dermatologie-Rhumatologie, HUIRB, Antananarivo

La lèpre est endémique dans plusieurs régions du globe avec 14 pays enregistrant plus de 1 000 nouveaux cas par an depuis 2006<sup>6</sup>. L'incidence mondiale de la lèpre en 2013 est de plus de 215 000 nouveaux cas (3,8/100 000 habitants) dont près de 21 000 (3.50/100.000) survenus en Afrique. A Madagascar la lèpre est un problème majeur de santé publique malgré l'existence d'un Programme National de Lutte contre la Lèpre (PNLL) et la poly-chimiothérapie (PCT) disponible depuis environ 20 ans. Pour la période 2006-2013, entre 1500 à 1700 nouveaux cas par an ont été déclarés<sup>6</sup> dont 9% chez les enfants. Avec la collaboration du service de dermatologie de l'HUIRB Antananarivo, nous avons contribué à la surveillance clinico-biologique de la lèpre dans la région Analamanga depuis 2012 avec l'objectif à terme de l'étendre au niveau national. Les principales activités de 2014 ont été (i) de continuer les consultations dermatologiques hospitalières et de terrain, et (ii) d'améliorer les outils de diagnostic moléculaire de *M. leprae*.

En 2014, nous avons reçu de 14 patients des échantillons de suc d'oreille et/ou de biopsies cutanées, soit une légère diminution des cas comparée à 2013 (16 patients). L'âge médian des patients est de 22 ans (15 ans 25<sup>ème</sup> percentile /52 ans 75<sup>ème</sup> percentile) et le sex ratio F:M de 0,6. Les formes multibacillaires (57,1%) et la lèpre tuberculoïdes (42,9%) prédominent. La recherche de bacilles acido-alcoolo-résistant après coloration de Ziehl-Neelsen est positive chez 5 biopsies sur 14 (35,7%) et négative sur le reste. La lecture des lames après étalement de suc de l'oreille est plus difficile en raison de la richesse en globules rouges des prélèvements. Avec les recommandations de l'Ecole Polytechnique Fédérale (EPL) de Lausanne, Suisse, nous avons utilisé un couple d'amorces additionnel (REP7/REP8) dans la région des séquences répétées de *M. leprae*<sup>7</sup> en complément des amorces R1/R2 déjà décrites<sup>8</sup>. Les résultats obtenus avec les 2 couples d'amorces sont équivalents. En comparant les résultats de la PCR avec ceux de la microscopie, la PCR a permis de détecter *M. leprae* sur 9 lames de biopsies négatives, tandis que 4 sur 5 lames de biopsies positives avaient des résultats concordants. Nous recherchons également les mutations qui confèrent une résistance à la rifampicine dans le locus du gène *rpoB*, aux fluoroquinolones dans *gyrA* et à la dapsonne dans *folP1*, grâce au kit *GenoType Leprae DR* (Hain Lifescience, Germany)<sup>9</sup>. Aucune résistance à ces médicaments n'a été décrite pour tous les isolats testés depuis le début de l'étude. Les biopsies positives sont envoyées au CNR des Mycobactéries, Paris (Cambau E.) pour contrôle de qualité. En 2014 nous avons envoyé à l'EPL, Suisse un isolat (*LEP06008*) pour investigations supplémentaires. Les résultats ont montré qu'il faisait partie du génotype 1D.

En 2015 nos priorités sont les suivantes : (i) assurer une meilleure programmation des missions de terrain et accroître le dépistage actif ; (ii) réaliser systématiquement une enquête chez les contacts directs des malades ; (iii) assurer >95% de complétude des données du formulaire lèpre ; (iv) réaliser des prélèvements (biopsies cutanées et suc de l'oreille) de qualité et en quantité suffisante ; (v) prendre part à des formations pour améliorer la lecture des lames ; (vi) augmenter la performance des tests moléculaires, en particulier la technique d'extraction, et (vii) assurer >95% de rendu des résultats de laboratoire.

En perspective, un volet d'étude phylogénétique des isolats de Madagascar est envisagé.

Cette étude est financée par la Fondation Mérieux.

<sup>6</sup> Relevé Epidémiologique Hebdomadaire 2014;89(36):389–400

<sup>7</sup> Monot M *et al.* Nature Genetics 2009;41(12):1282-9

<sup>8</sup> Yoon KH *et al.* J Clin Microbiol 1993;31(4):895-9

<sup>9</sup> Cambau E *et al.* PLoS Negl Trop Dis 2012;6(7): e1739. doi:10.1371/journal.pntd.0001739

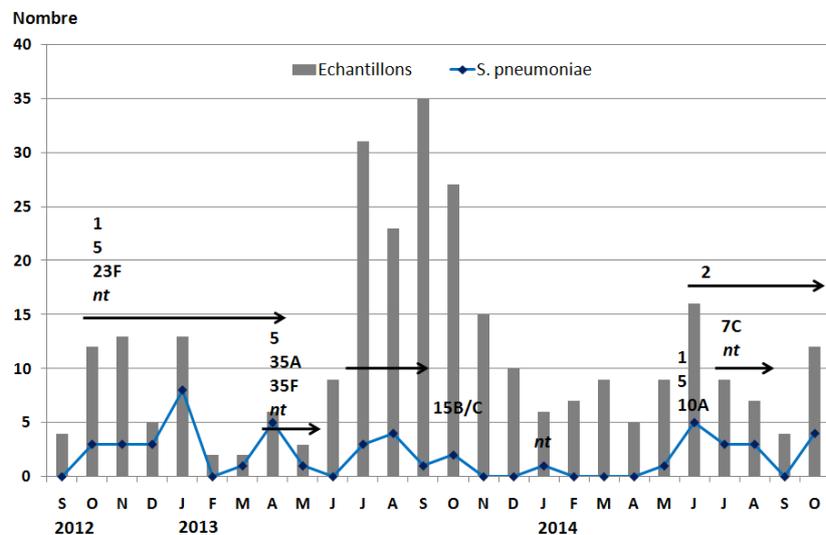
## Surveillance des méningites bactériennes pédiatriques

Razafindrakoto C<sup>a</sup>, Raboba L<sup>b</sup>, Harioly Nirina M<sup>a</sup>, Rahajamanana L<sup>b</sup>, Rakotomalala A<sup>a</sup>, Rakoto Andrianarivelo M<sup>a</sup>, Milenkov M<sup>c</sup>, Telles JN<sup>c</sup>, Paranhos Bacçalà G<sup>c</sup>, Contamin B<sup>a</sup>, Robinson A<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM), Antananarivo ; <sup>b</sup> Centre hospitalo-universitaire Mère-Enfants Tsaralalàna (CHUMET), Antananarivo ; <sup>c</sup> Laboratoire des Pathogènes Emergents (LPE), Lyon

Les activités de surveillance des méningites bactériennes pédiatriques entamées en 2012 se sont poursuivies en 2014. Le CICM reçoit des échantillons de LCR prélevés chez des enfants de moins de 5 ans hospitalisés au CHUMET Antananarivo et répondant aux critères de sélection des cas<sup>10</sup>. Le site sentinelle de surveillance des méningites bactériennes pédiatriques est basé au CHUMET Antananarivo où sont effectuées les cultures bactériennes. Le rôle du CICM est d'appuyer le programme national OMS de surveillance en fournissant un diagnostic moléculaire de *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* et *Haemophilus influenzae b*. Les méthodes utilisées sont celles développées par le LPE Lyon qui a également fourni les réactifs et le support nécessaire à sa mise en place au CICM. Les ADN bactériens sont extraits manuellement avec le kit QIAamp DNA blood mini kit (QIAGEN) puis soumis à une amplification en temps réel (thermocycleur Bio-Rad CFX96). Pour différencier les 3 pathogènes, des amorces-sondes ciblant des régions bien conservées et spécifiques de l'espèce *S. pneumoniae* (*lytA*), *N. meningitidis* (*frpA*), *Hib* (*bexA*) et un contrôle interne (*srtC2*) sont utilisées. Les échantillons positifs pour *S. pneumoniae* sont soumis à une PCR multiplex permettant de détecter 42 sérotypes différents<sup>11</sup>. Les échantillons positifs pour *N. meningitidis* seront soumis à une autre PCR multiplex distinguant les sérogroupes A, B, C, W135, X, et Y. Aucune autre PCR n'est requise si *Hib* est diagnostiqué.

En 2014, nous avons analysé rétrospectivement 294 échantillons de LCR prélevés entre septembre 2012 et octobre 2014. L'âge moyen des enfants est de 15,4 mois. La valeur médiane des leucocytes dans le LCR est de 10 (6,5 25<sup>ème</sup> percentile/27 75<sup>ème</sup> percentile). Les résultats ont permis de détecter par PCR 34 *S. pneumoniae* additionnels par rapport à la culture. Les sérotypes 1 et 5 ont circulé jusqu'en avril 2013 puis de nouveau à partir de juin 2014 (Figure).



**Figure.** Sérotypes de *S. pneumoniae* identifiés chez des patients hospitalisés < 5 ans, sep. 2012 – oct. 2014 (nt = « non typable »)

Des sérotypes qui ne font pas partie de la composition du vaccin PCV10 utilisé dans le cadre du PEV de routine ont été identifiés : 2, 7C, 10A, 12F, 15B/C, 35A et 35F. Des souches « non typables » ont

<sup>10</sup> Température axillaire ou rectale > 38°C ; ET un ou plusieurs symptômes 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

<sup>11</sup> Sérotypes 1, 2, 3, 4, 5, 6A/B, 6C, 7F, 8, 9N/L, 9V, 10A, 10F, 11A, 12F, 13, 14, 15B/C, 16F, 18A/B/C/F, 19A, 19F, 21, 22F, 23A, 23B, 23F, 24F, 31, 33F, 34, 35A, 35B, 35F, 38 et 39

également été détectés et 2% des enfants présentaient des co-infections. Avec l'introduction récente du vaccin PCV10 en octobre 2012 et une couverture nationale de routine à 92% en 2013<sup>12</sup>, il est encore trop tôt pour se prononcer sur un éventuel impact de la vaccination sur l'épidémiologie des méningites à *S. pneumoniae*. Une méningite à *Hib* a été diagnostiquée en juillet 2013 et aucune souche de *N. meningitidis* n'a été détectée pendant la période étudiée.

Cette étude devrait permettre de mettre à disposition du programme un outil de diagnostic rapide et efficace de chaque malade mais aussi en cas d'épidémies ; d'améliorer la prise en charge des patients ; de surveiller la dynamique de circulation des souches et d'orienter éventuellement la stratégie vaccinale ou de contrôle de ces maladies.

L'implémentation de la technique moléculaire pour le diagnostic des méningites bactériennes est financée par la Fondation Mérieux.

## Surveillance des diarrhées à rotavirus

*Rahajamanana L<sup>a</sup>, Razafindrakoto C<sup>b</sup>, Raboba L<sup>a</sup>, Rakotomalala FA<sup>a</sup>, Rakoto Andrianarivelo M<sup>b</sup>, Contamin B<sup>b</sup>, Robinson A<sup>a</sup>*

<sup>a</sup> Centre hospitalo-universitaire Mère-Enfants Tsaralalàna (CHUMET), Antananarivo ; <sup>b</sup> Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM), Antananarivo

En 2014, les activités de surveillance des diarrhées à rotavirus se sont poursuivies à partir des selles d'enfants de moins de 5 ans hospitalisés pour diarrhées aiguës de moins de 7 jours. Au total, 195 échantillons ont été analysés dans les locaux du CICM par technique immunoenzymatique (ProSpect™ rotavirus kit, Oxoid Ltd, UK) ciblant la protéine de capsid VP6 présente chez les rotavirus du groupe A. Un taux de positivité très élevé de 58,5% (114) a été observé.

A partir de mi-septembre 2014, les activités de diagnostic ont été délocalisées vers le site sentinelle avec l'acquisition d'un lecteur ELISA neuf.

---

<sup>12</sup> Estimation OMS/UNICEF 2013 de la couverture vaccinale sur le site <http://apps.who.int> (accédé le 16/02/2015)

## Activités de formation

### Bioéthique

Renforcement de capacité en bioéthique pour les maladies chroniques et l'infection à VIH. Formation en bioéthique de la recherche en vue de la mise en place d'un comité d'éthique institutionnel à la Faculté de Médecine. Partenaires : Université de Caroline du Nord (USA), Université de Namur (Belgique), Fogarty International Center (USA).

### Cours d'Epidémiologie et Statistiques

Une courte formation en Epidémiologie et Statistiques à l'intention des chercheurs et des médecins spécialistes des hôpitaux publics a été organisée du 18 au 20 novembre 2014 avec l'appui de l'Université Claude-Bernard, Lyon 2 (Dr Thomas Benêt).

### Travaux Pratiques

Des TP de bactériologie (03-07/02/2014, Dr Isabelle Henry, CIRAD) et de mycologie (22-26/09/2014, Pr Muriel Cornet, Université de Grenoble) et s'adressant aux médecins et techniciens de laboratoire des hôpitaux publics ont été organisés avec le partenariat du Ministère de la Santé Publique et du Département de Biologie de la Faculté de Médecine d'Antananarivo.

### Système Informatisé de Gestion

Une formation associée à la mise en place d'un Système Informatisé de Gestion de Laboratoire a été réalisée dans un laboratoire de biologie médicale de CHU et 8 laboratoires d'hôpitaux régionaux.

En mai 2014 un serveur informatique (Dell power edge) a été installé dans les locaux du CICM pour assurer le stockage des bases de données.

### Mémoires

Diplôme d'Etudes de Formations Spécialisées (DEFS) en Biologie Médicale, Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo :

- Diarrhées bactériennes chez les enfants hospitalisés au CHU Mère-Enfant Tsaralàna (Dr Catherine RAZAFINDRAKOTO, 2013-2014, soutenance en cours)
- Infections urinaires bactériennes au CHU Befelatanana (Dr Saïda RASOANANDRASANA, 2013-2014, soutenance en cours)

Master 2 de Recherche avec spécialisation en Ingénieries pour la Santé et le Médicament, Université de Grenoble :

- Utilisation d'une Stratégie basée sur la PCR pour le diagnostic et l'identification des agents causaux des chromoblastomycoses et des sporotrichoses à Madagascar: une étude sur 31 cas (M. Tahinamandranto RASAMOELINA, 2013-2014, soutenu)

Master 1 de Santé Publique, Université Paris-Sud (Dr Rivonirina Andry RAKOTOARIVELO, 2014-2015)

Master 1 en Infectiologie : microbiologie, virologie, immunologie, Université Paris Diderot Paris VII, stage dans le laboratoire du Pr Emmanuelle CAMBAU, Hôpital Lariboisière, Paris VII (Dr Saïda RASOANANDRASANA, 2014-2015)

## Produits scientifiques

### Publications

1. Randriamahazo TR, Raheirinaivo AA, Rakotoarivelo ZH, **Contamin B**, Rakoto Alson OA, Andrianapanalinarivo HR, Rasamindrakotroka A. Prevalence of hepatitis B virus serologic markers in pregnant patients in Antananarivo, Madagascar. *Med Mal Infect.* 2014 Oct 30. pii: S0399-077X(14)00310-2. doi: 10.1016/j.medmal.2014.10.008
2. Picot VS, Bénet T, Messaoudi M, Telles JN, Chou M, Eap T, Wang J, Shen K, MD, Pape JW, Rouzier V, Awasthi S, Pandey N, Bavdekar A, Sanghvi S, Robinson A, **Contamin B**, Hoffmann J, Sylla M, Diallo S, Nymadawa P, Dash-Yandag B, Russomando G, Basualdo W, Komurian-Pradel F, Vernet G, Endtz H, Siqueira MM, Barreto P, Vanhems P, Paranhos-Baccalà G, GABRIEL pneumonia Network. Multicenter case-control study protocol of severe pneumonia etiology in children: Global approach to biological research infectious diseases and epidemics in low income countries (GABRIEL network). *BMC Infectious Diseases* 2014, 14:635. <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/14/635>
3. Cardinale E, Abat C, **Contamin B**, Porphyre V, Rakotoharinome M, Maeder M. Salmonella and Campylobacter Contamination of Ready-to-Eat Street-Vended Pork Meat Dishes in Antananarivo, Madagascar: A Risk for the Consumers? *Foodborne Pathog Dis.* 2015 Mar;12(3):197-202.

### Communications orales

1. Rasamoelina T. Utilisation d'une Stratégie basée sur la PCR pour le Diagnostic et l'Identification des Agents Causaux des Chromoblastomycoses et des Sporotrichoses à Madagascar: une Etude sur 31 cas. Congrès SOMADER, Akademia Nasionaly Malagasy, 10-12 novembre 2014
2. Rakoto-Andrianarivelo M. Detection and typing of Neisseria Meningitis by molecular assay in Madagascar. 7<sup>th</sup> Annual GABRIEL Meeting, 14-17 December 2014, Les Pensières, Annecy, France.
3. Rasamoelina T. A PCR-based strategy for the diagnosis of chromoblastomycosis and sporotrichosis in Madagascar: a study of 31 cases. 7<sup>th</sup> Annual GABRIEL Meeting, 14-17 December 2014, Les Pensières, Annecy, France.