

<b>Rapport annuel d'activité</b>	<b>2015</b>
<b>Centre de national de référence du Paludisme</b>	<b>Année d'exercice 2014</b>

# Résumé analytique des activités 2014

Les activités que nous rapportons sont celles de l'année 2014, troisième année de fonctionnement du CNR du paludisme, qui regroupent les données du pôle métropole et du pôle Antilles-Guyane.

## **Pôle métropole**

Les données du CNR du paludisme mettent en évidence, **au plan du fonctionnement du réseau en métropole**, l'adhésion de nos correspondants à l'organisation et au fonctionnement du CNR puisqu'en 2014, l'exhaustivité de la transmission des prélèvements est de 75,8% pour 2362 cas à partir de 70 hôpitaux (sur les 82 hôpitaux correspondants du réseau).

Pour ces mêmes cas, la surveillance post-thérapeutique recommandée par la conférence de consensus 2007 de prise en charge du paludisme reste incomplète avec en 2014, 31,1 % de suivis parasitologiques et cliniques pour la détection des échecs précoces et seulement, 17,1% pour la détection des échecs tardifs. La mobilisation des équipes cliniques pour cette surveillance est difficile compte tenu de la bonne efficacité des traitements antipaludiques actuellement recommandés, mais dont la biodisponibilité est variable quelle que soit l'association thérapeutique considérée.

**Sur le plan de l'épidémiologie**, pour l'année 2014, un total de 2 299 cas de paludisme a été déclaré au Centre national de référence (CNR) du Paludisme par les correspondants du réseau métropolitain. Deux cas sont des paludismes présumés autochtones aéroportuaires. Le nombre de cas de paludisme d'importation a été estimé à environ 4370 cas pour l'ensemble de la France métropolitaine (représentativité du réseau 2014 : 52 %, stable par rapport à 2013). A déclarants constants, une augmentation significative des cas, d'environ 8 % par rapport à 2013, est observée. Comme pour les dernières années, les pays de contamination sont toujours majoritairement situés en Afrique subsaharienne (96 %), les cas surviennent principalement chez des sujets d'origine africaine (76,5 %), résidant en France ou arrivant d'Afrique, et ils sont dus en majorité à l'espèce *Plasmodium falciparum* (86 %), stable par rapport à 2013. Un accès à *Plasmodium knowlesi* est diagnostiqué chez un voyageur au retour d'Indonésie (Sumatra, Pulau-Weh, séjour en forêt avec un contact quotidien avec les singes), traité avec succès par la chloroquine.

Pour les principaux pays de contamination, la tendance à l'augmentation des cas en provenance de la Côte d'Ivoire (n=638, +22 %) et du Cameroun (n=402, +14 %) par rapport à 2013 se poursuit. Les cas en provenance du Mali sont en diminution modérée de 10% essentiellement du fait d'une diminution des cas chez les militaires (10 cas en 2014 versus 39 cas en 2013). Les cas en provenance de République centrafricaine augmentent cette année de 69 % en lien avec une très forte augmentation des cas chez les militaires (+395 %) (104 cas en 2014 versus 21 en 2013). Il n'y a en 2014 qu'un seul cas de paludisme d'importation au retour des Comores contre 53 cas rapportés en 2013 (45 en 2012).

Le nombre et la proportion des formes graves 311 (13,5 %) sont en augmentation par rapport à l'année 2013 (267, 12,6 %). Un total de 11 décès est déclaré, soit une létalité de 0,48 % sur l'ensemble des cas et de 3,7 % sur les formes graves, ces chiffres sont stables par rapport à ceux de 2013. Le traitement par artésunate intraveineux, recommandé par le Haut Conseil de la Santé Public en 2013<sup>1</sup>, est maintenant le traitement le plus prescrit pour la prise en charge des accès graves, (73% des cas).

Au final, l'année 2014 confirme la tendance à l'augmentation des cas de paludisme importés en France métropolitaine observée en 2013. On note cette année une poursuite de l'augmentation des cas en provenance de Côte d'Ivoire et du Cameroun essentiellement en lien avec les sujets d'origine africaine en visite dans leur famille. La légère diminution du nombre de cas en provenance du Mali et la nette augmentation des cas en provenance de République Centrafricaine sont expliquées en grande partie par les variations des cas survenant chez les militaires français déployés dans ces pays. Concernant les Comores, le nombre de cas atteint son plus bas niveau depuis la mise en place de cette surveillance (1996). Pour les autres pays, les variations observées ne sont pas significatives. Les sujets d'origine

---

<sup>1</sup> <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=310>

africaine sont toujours très majoritaires dans la distribution des cas de paludisme importés. Le nombre de cas graves continue d'augmenter sans que l'on observe d'augmentation concomitante de la létalité.

Les données sur l'évolution des chimiorésistances aux antipaludiques en 2014 sont sans particularité par rapport aux années antérieures justifiant les recommandations de chimioprophylaxie du paludisme, en adéquation avec les recommandations internationales. Les rares cas de chimiorésistance à la méfloquine et les quelques échecs thérapeutiques à l'atovaquone-proguanil et à l'artéméther-luméfantrine en traitement curatif incitent à recommander des contrôles post-thérapeutiques tardifs (J28) pour ces médicaments à longue demi-vie d'élimination. Le non-respect des recommandations de prévention est à l'origine de la plupart des cas de paludisme d'importation étudiés.

En 2014, quand une chimioprophylaxie est alléguée par le patient (32,1 %), celle-ci est infirmée dans 93,4 % des cas par le dosage d'antipaludique dans le plasma. Alors que la proportion de patients déclarant la prise d'une chimioprophylaxie était comprise entre 35 % et 23% entre 2006 et 2013, celle-ci était également infirmée dans 64 % à 87 % des cas ces dernières années. Le non-respect des recommandations de prévention est à l'origine de la plupart des cas de paludisme d'importation étudiés.

**Sur le plan du diagnostic et de la prise en charge** du paludisme importé, un test immunochromatographique antigénique est associé à une méthode de diagnostic microscopique dans 99,8% des diagnostics. La concordance entre le diagnostic d'espèce initial et celui réalisé au CNR du Paludisme est bonne.

L'atovaquone-proguanil reste la première ligne thérapeutique (48,5%) suivie par les combinaisons à base d'artémisinine, l'association artéméther-luméfantrine ou l'association dihydroartémisinine-pipéraquline. Les échecs thérapeutiques curatifs liés à la résistance parasitaire à l'atovaquone-proguanil sont inférieurs à 1% sur la période 2006-2014. Aucun cas d'échec prophylactique de l'atovaquone-proguanil n'a été confirmé.

**Sur le plan de l'efficacité et de la tolérance des traitements** du paludisme importé, il n'est pas observé d'augmentation de résistance à l'atovaquone-proguanil et la sensibilité *in vitro* à la luméfantrine, à la pipéraquline et à la dihydroartémisinine reste élevée. La sensibilité moyenne des isolats à la chloroquine continue de s'élever du fait de la baisse des pressions sélectives sur les parasites en Afrique. Il n'a pas été mis en évidence de mutations associées à la résistance à l'artémisinine dans les isolats de paludisme d'importation analysés.

### **Pôle Antilles-Guyane**

2014 montre une augmentation du recrutement du LA-AG qui a atteint cette année un niveau d'exhaustivité global de 49% toutes espèces confondues (219 isolats sur 446 déclarés) contre 38% l'année précédente. Cette augmentation est le fruit d'une sensibilisation conjointe avec la Cire AG et le laboratoire de l'hôpital de Cayenne dans le centre de santé de Maripa Soula qui diagnostique de nombreux accès palustres notamment chez les orpailleurs travaillant dans cette commune. Ainsi les isolats collectés au LA-AG proviennent de différentes régions de Guyane incluant les sites d'orpillages (25% des cas reçus au laboratoire proviennent de ces zones). Le niveau de participation est cependant très faible pour les centres de santé situés le long de l'Oyapock et à Régina. L'année 2015 sera donc consacrée à sensibiliser ces centres ainsi que celui de Talhuen sur le Maroni.

Le laboratoire a participé à une étude épidémiologique portant sur la prévalence de l'infection palustre sur un site d'orpillage clandestin (Eaux Claires) menée par le Service de Santé des Armées, en réalisant les diagnostics moléculaires sur les échantillons prélevés. Ainsi, nous avons pu montrer que 50% des orpailleurs étaient porteurs de plasmodies dont 40% de façon asymptomatique.

Le niveau de sensibilité a pu être étudié chez 85 isolats *in vitro*, le génotype de 77 isolats a été étudié au niveau du gène *pfK13* et 88 au niveau du gène *pfcytb*. Le niveau de sensibilité des plasmodies aux antipaludiques actuellement recommandées en Guyane est satisfaisant et aucune mutation n'a été identifiée dans les deux gènes étudiés.

L'année 2014 n'a pas permis de confirmer les alertes émises au Suriname et au Guyana en 2012/2013 concernant une éventuelle baisse de la sensibilité aux dérivés de l'artémisinine. Aucune mutation dans le gène *pfK13* n'a été retrouvée dans nos isolats de Guyane ou dans les 73 isolats analysés au laboratoire en provenance du Guyana. Les premiers tests RSA (n=21) réalisés montrent quelques isolats

potentiellement tolérants mais ces résultats nécessitent d'être consolidés avant une interprétation définitive.

Au niveau international, 2014 a vu la nomination du laboratoire comme centre collaborateur OMS pour la résistance aux antipaludiques. Ainsi plusieurs actions ont eu lieu dans ce cadre : formation de personnes du Suriname, génotypage d'isolats en provenance du Guyana, participation à différentes réunions en tant d'expert.

En 2014, le dossier multisites d'accréditation EN NF ISO 15189 porté par l'Institut Pasteur de la Guyane a vu le laboratoire de virologie accrédité pour sa technique relative à la sérologie de la dengue. En 2015, nous déposerons une demande d'extension de portée incluant la PCR diagnostique du paludisme par PCR en temps réel. Pour mener à bien cette démarche, l'Institut Pasteur est accompagné d'un cabinet conseil, PREISO.

Les activités de recherche ont continué à se concentrer sur la compréhension de l'évolution des résistances en Guyane en s'attachant plus particulièrement à élucider ce paradoxe guyanais à savoir, une fraction importante des isolats de *P. falciparum* sensibles à la chloroquine *in vitro*, malgré la présence de la mutation caractéristique de la résistance. Ainsi nous avons pu identifier une mutation C350R dans le gène *pfcr* que tous les isolats chloroquino-sensibles portent aujourd'hui.

# Table des matières

Résumé analytique des activités 2014	2
Table des tableaux	9
<b>1. Missions et organisation du CNR</b>	<b>11</b>
<b>2. Activités d'expertise</b>	<b>12</b>
2.1 Evolution des techniques	12
2.1.1 Pôle Métropole	12
2.1.2 Pôle Antilles-Guyane : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane	12
2.2 Présentation des activités d'expertise et de leur évolution	13
2.2.1 Pôle Métropole	13
2.2.2 Pôle Antilles – Guyane	17
<b>3 Activités de surveillance</b>	<b>18</b>
3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques du paludisme	18
3.1.1 Réseau de partenaires	18
<b>QUESTION 5 : Quelles sont les techniques actuellement utilisées dans votre laboratoire ?</b>	<b>19</b>
3.1.2 Epidémiologie du paludisme d'importation – Pôle métropole	30
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques du paludisme en zone d'endémie – Pôle Antilles Guyane	58
3.2.1 Définition des isolats collectés	58
3.2.2 Contribution à la surveillance en interface avec l'InVS et l'ARS Guyane	59
3.2.3 Distribution des cas de paludisme en Guyane	59
3.2.4 Patients hospitalisés pour paludisme en Guyane	60
3.2.5 Distribution des cas de paludisme aux Antilles	61
3.3 Surveillance de la résistance de <i>P. falciparum</i> aux antipaludiques	61
3.3.1 Surveillances de la sensibilité des isolats importés de <i>P. falciparum</i> – Pôle métropole	61
3.3.2 Surveillances de la sensibilité des isolats importés de <i>P. falciparum</i> sur l'île de la Réunion – Pôle métropole	70
3.3.3 Surveillances de la sensibilité des isolats de Mayotte – Pôle métropole	71
3.3.4 Surveillance de la résistance de <i>Plasmodium falciparum</i> aux antipaludiques en Guyane	71
3.3.4.1 Chimiosensibilité de <i>P. falciparum</i> aux antipaludiques	71
3.3.4.2 Survie de <i>P. falciparum</i> en présence de dérivés de l'artémisinine	80
3.3.4.3 Génotypes des isolats	80
3.4 Paludisme grave en 2014	80
3.4.1 Cas graves déclarés dans la base CNR du Paludisme en 2014	80
3.4.2 Recueil des isolats et analyse du pitting « naturel » <i>in vivo</i>	85
3.4.3 Données de tolérance de l'AS en France	93
3.4.3.1 Les états anémiques	93
3.4.3.2 Les effets indésirables généraux	93
3.4.4 Décès déclarés dans la base CNR du Paludisme en 2014, description des cas	93
3.5 Analyse des tendances	100
3.6 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux	100
3.6.1 Réseau Mondial de surveillance de la résistance aux antipaludiques (WWARN)	101
3.6.2 Réseau de surveillance de la résistance dans le bassin amazonien (RAVREDA)	101

3.7	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance .....	101
3.7.1	Surveillance de la résistance de <i>Plasmodium falciparum</i> aux dérivés de l'artémisinine : participation du CNR au protocole KARMA .....	101
3.7.2	Evaluation du niveau de résistance aux antipaludiques au Sénégal.....	101
3.7.3	Exploration de cas de paludisme autochtones en Tunisie .....	102
3.7.4	Implication du gène <i>pfcr1</i> dans le niveau de sensibilité à la chloroquine de <i>P. falciparum</i> en Guyane <sup>102</sup>	
3.7.5	Epidémiologie du paludisme sur un site d'orpaillage clandestin en forêt guyanaise .....	103
<b>4</b>	<b>Alerte</b> .....	<b>104</b>
4.1	Procédure d'alerte en cas de détection de phénomène anormal.....	104
4.2	Phénomènes ayant fait l'objet d'un signalement ou d'une alerte .....	104
4.2.1	En métropole.....	104
4.2.1.1	Mésusage d'utilisation d' <i>Artemisia vulgaris</i> .....	104
4.2.1.2	Paludismes autochtones .....	105
4.2.1.3	Gestion du risque d'infection par le virus Ebola .....	106
4.2.2	Aux Antilles – Guyane.....	106
<b>5</b>	<b>Activités d'information, de formation et de conseil</b> .....	<b>107</b>
5.1	Enseignements, formations aux professionnels de santé, accueil de stagiaires .....	107
5.1.1	Pôle métropole.....	107
5.1.2	Pôle Antilles-Guyane.....	107
5.2	Guides élaborés.....	108
5.3	Modalités de diffusion des données de surveillance et production du CNR .....	108
5.4	Activités de conseil aux professionnels .....	109
5.5	Activités de conseil à destination du public.....	109
5.6	Activités d'expertises auprès des autorités sanitaires.....	109
5.6.1	Régionales : Guyane.....	109
5.6.2	Nationales .....	110
5.6.3	Internationales.....	110
<b>6</b>	<b>Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR.....</b>	<b>111</b>
6.1	Travaux de recherche.....	111
6.1.1	Evaluation de nouveaux antipaludiques.....	111
6.1.2	Recherche de marqueurs moléculaires de résistance à la doxycycline, à la pyronaridine et à la pipéraquine .....	112
6.1.3	Evaluation des performances d'un microscope automatisé pour le diagnostic du paludisme : CellsCheck .....	113
6.1.4	Evaluation des biomarqueurs de la résistance chez <i>Plasmodium falciparum</i> dans la surveillance des ACTs.....	113
6.1.5	Evaluation de la sensibilité aux insecticides de populations d' <i>Anopheles darlingi</i> , vecteur du paludisme en Guyane.....	114
6.2	Liste des publications et communications.....	115
6.2.1	Publications internationales.....	115
6.2.2	Communications internationales .....	117
6.2.3	Communications nationales .....	118
<b>7</b>	<b>Coopération avec les laboratoires environnementaux et d'hygiène.....</b>	<b>118</b>
<b>8</b>	<b>Programme d'activité 2015 et 2016 .....</b>	<b>119</b>
<b>9</b>	<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>120</b>

## Table des figures

<b>Figure 1.</b> Recrutement réalisé entre 2004 et 2014 du laboratoire associé, région Antilles-Guyane, en Guyane.....	18
<b>Figure 2 :</b> Distribution des cas de paludisme déclarés par les correspondants du réseau du CNR du Paludisme en France métropolitaine en fonction des trois grands profils épidémiologiques pour l'année 2014. ....	23
<b>Figure 3.</b> Réseau de partenaires guyanais – pôle Antilles-Guyane.....	26
<b>Figure 4.</b> Carte du risque de paludisme en Guyane, janvier 2013.....	27
<b>Figure 5.</b> Réseau des partenaires antillais : Martinique – Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Fort de France, Guadeloupe – CHU de Pointe à Pitre.....	28
<b>Figure 6 :</b> Evolution du paludisme d'importation, cas déclarés, cas estimés et nombre de voyageurs vers les zones impaludées, France métropolitaine 1996 à 2014. ....	31
<b>Figure 7 :</b> Variation des voyageurs par régions et continents de séjour entre 2012 et 2013. ....	32
<b>Figure 8 :</b> Variation par région des cas de paludisme déclarés en France métropolitaine entre 2013 et 2014.....	32
<b>Figure 9 :</b> Répartition régionale des cas de paludisme déclarés par le réseau des correspondants du CNR du Paludisme, France métropolitaine, année 2014, n = 2 299.....	33
<b>Figure 10 :</b> Distribution mensuelle des cas de paludisme déclarés par le réseau des correspondants du CNR du Paludisme, France métropolitaine, année 2014, n =2246. (a) Espèce <i>P. falciparum</i> (b) Espèces autres que <i>P. falciparum</i> .....	33
<b>Figure 11 :</b> Evolution annuelle du nombre de voyageurs en zone d'endémie et des cas de paludisme d'importation des sujets d'origine africaine et caucasienne entre 1996 et 2014. ....	36
<b>Figure 12 :</b> Evolution annuelle des proportions de paludisme d'importation des sujets d'origine africaine et caucasienne entre 1996 et 2014.....	36
<b>Figure 13:</b> Méthode de diagnostic de l'accès palustre, n = 2285.....	40
<b>Figure 14.</b> Distribution cas de Paludisme d'importation par espèces, France métropolitaine, 2014, n = 2290.....	41
<b>Figure 15 :</b> Protection personnelle anti-moustiques (PPAM) en 2014, n = 1 495. ....	49
<b>Figure 16.</b> Classification des échecs prophylactiques selon les dosages plasmatiques.....	51
<b>Figure 17.</b> Evolution du nombre de cas déclarés de paludisme en Guyane entre 2004 et 2014. ....	60
<b>Figure 18.</b> Evolution du nombre de décès liés au paludisme en Guyane entre 2005 et 2014. ....	61
Figure 19 : Evolution des chimiosensibilités à la chloroquine entre 2010 et 2014.....	62
Figure 20 Répartition des échantillons chloroquino-résistants en fonction du pays d'endémie .....	63
Figure 21 Evolution des chimiosensibilités à la quinine entre 2010 et 2014.....	63
Figure 22 Evolution des chimiosensibilités à l'atovaquone entre 2010 et 2014.....	64
Figure 23 Evolution des chimiosensibilités à la doxycycline entre 2010 et 2014.....	64
Figure 24 Evolution des chimiosensibilités à la dihydroartémisinine entre 2010 et 2014 .....	65
Figure 25 Evolution des chimiosensibilités à la Mono déséthyl-amodiaquine entre 2010 et 2014 .....	65
Figure 26 Evolution des chimiosensibilités à la luméfantine entre 2010 et 2014.....	66
Figure 27 Evolution des chimiosensibilités à la pipéraquine entre 2010 et 2014.....	66
Figure 28 Evolution des chimiosensibilités à la méfloquine entre 2010 et 2014.....	67
Figure 29 Evolution des chimiosensibilités à la pyronaridine entre 2010 et 2014.....	67
<b>Figure 30.</b> Niveau de sensibilité <i>in vitro</i> de <i>P. falciparum</i> envers six molécules antipaludiques. ....	72
<b>Figure 31.</b> Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2014 : chloroquine (gauche), atovaquone (droite). ....	74
<b>Figure 32.</b> Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2014 : quinine (gauche), doxycycline (droite). ....	75
<b>Figure 33.</b> Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2014 : dihydro-artémisinine (gauche), artéméther (droite). ....	76
<b>Figure 34.</b> Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2014 : luméfantine (gauche), méfloquine (droite). ....	77

<b>Figure 35.</b> Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2014 : monodéséthyl- amodiaquine (gauche), pyronaridine (droite).....	78
<b>Figure 36.</b> Pipéraquine : évolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2014.....	79
<b>Figure 37 :</b> Répartition des cas en fonction de l'état clinique, CNR du Paludisme, année 2014, n = 2 269.....	80
<b>Figure 38 :</b> Évolution de la répartition de l'état clinique selon les années de 2007 à 2014.....	82
<b>Figure 39 :</b> Évolution des cas graves de paludisme d'importation en France de 2000 à 2014 .....	82
<b>Figure 40 :</b> Évolution globale et spécifique de la létalité de 2000 à 2014 .....	83
<b>Figure 42 :</b> Evolution du délai diagnostic pour paludisme grave de 2000 à 2014.....	83
<b>Figure 43 :</b> Evolution de la prise de chimioprophylaxie déclarée des cas de paludisme graves et simples de 2000 à 2014.....	84
<b>Figure 44 :</b> Evolution en pourcentage des cas graves de paludisme d'importation en fonction de l'origine ethnique africaine ou caucasienne de 2000 à 2014. ....	85
<b>Figure 44 (a).</b> Suivi biologique des patients avec un accès grave ou simple traités par artésunate IV en première intention (Trt1) pour l'année 2014.....	87
<b>Figure 45 (a) suite.</b> Suivi biologique des patients avec un accès grave ou simple traités par artésunate IV en première intention (Trt1) pour l'année 2014. ....	88
<b>Figure 46 (b).</b> Suivi biologique des patients avec un accès grave ou simple traités par artésunate IV en deuxième intention (Trt2) pour l'année 2014. ....	89
<b>Figure 48.</b> Suivi biologique des patients avec un accès grave traités par quinine IV ou un autre médicament <i>per os</i> pour l'année 2014.....	90
<b>Figure 47 (a).</b> Suivi biologique des patients traités avec un accès simple pour l'année 2014 .....	91
<b>Figure 47 (a).</b> Suivi biologique des patients traités avec un accès simple pour l'année 2014 .....	92
<b>Figure 52 :</b> Evolution clinique des accès palustres, CNR du paludisme, année 2014, n = 2297. ....	94



## Table des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Evolution du pourcentage d'isolats transmis à un des sites d'analyse du CNR du Paludisme entre 2006 et 2014 par hôpital correspondant .....	14
<b>Tableau 2</b> : médianes régionales des cas de paludisme diagnostiqués en France métropolitaine en 2013 (enquête ANSM 2014) .....	21
<b>Tableau 3</b> : Nombre de cas déclarés (dont les rechutes) et nombre d'isolats transmis à l'un des sites d'analyse du CNR du paludisme en 2014 par hôpital correspondant. ....	23
<b>Tableau 4</b> . Partenaires du LA-AG: localisation, fréquence des liaisons avec Cayenne et niveau de participation à la surveillance des résistances plasmodiales en 2014. ....	29
<b>Tableau 5</b> . Missions de sensibilisation du LA-AG auprès des partenaires réalisées en 2014. ....	30
<b>Tableau 6</b> : Cas déclarés et cas estimés de paludisme en France métropolitaine, tendances évolutives 2010 -2014.....	31
<b>Tableau 7</b> . Répartition des cas en fonction des tranches d'âge pour la population totale, France métropolitaine, année 2014, .....	34
<b>Tableau 8</b> . Répartition des hommes et des femmes en fonction des tranches d'âge pour la population totale, France métropolitaine, année 2014, n = 2 299.....	34
<b>Tableau 9</b> : Répartition des hommes et des femmes en fonction de l'origine ethnique pour la population totale en 2014 (n=2067) .....	35
<b>Tableau 10</b> : Répartition des cas en fonction du profil épidémiologique et de l'origine ethnique en 2014.....	35
<b>Tableau 11</b> : Répartition des cas en fonction du profil épidémiologique et du pays de résidence en 2014, n=2085.....	37
<b>Tableau 12</b> . Répartition des cas en fonction du profil épidémiologique et de la région d'endémie visitée en 2014, France métropolitaine, n = 2087 .....	38
<b>Tableau 13</b> . Répartition des cas en fonction du profil épidémiologique pour les 17 pays de contamination les plus fréquemment cités en 2014, n=2161 .....	39
<b>Tableau 14</b> : Evolution des cas de Paludisme d'importation en provenance des Comores pour les 12 centres correspondants du CNR du Paludisme les plus concernés par cette population. ....	39
<b>Tableau 15</b> . Répartition des espèces en effectifs et en pourcentages dans les différentes régions et sous continents en 2014 pour la population totale.....	42
<b>Tableau 16</b> : Répartition par espèces en pourcentage dans les différentes régions et sous continents en 2014.....	43
<b>Tableau 17</b> . Concordance entre l'espèce déclarée et l'espèce confirmée en microscopie optique après réception au CNR du Paludisme en 2014.....	44
<b>Tableau 18</b> . Types des accès cliniques en effectifs et en pourcentages en fonction des espèces plasmodiales pour la population totale en 2014, n = 2 260.....	45
<b>Tableau 19</b> . Type des accès cliniques à <i>P. falciparum</i> (seul ou en association) en effectif et en pourcentage, en fonction de l'âge pour la population totale en 2014.....	46
<b>Tableau 20</b> . Evolution clinique des accès en fonction du type d'accès clinique, en effectifs et en pourcentages pour la population totale en 2014. ....	46
<b>Tableau 21</b> . Evolution des accès cliniques en effectifs et en pourcentages en fonction de l'âge pour la population totale, n=2 297 .....	46
<b>Tableau 22</b> . Délai d'apparition des symptômes (en jours) par rapport à la date du retour de la zone d'endémie en fonction de l'espèce plasmodiale pour l'année 2014, n = 1813.....	47
<b>Tableau 23</b> . Délai diagnostique (en jours) en fonction de l'espèce plasmodiale pour l'année 2014, n = 1902.....	47
<b>Tableau 24</b> . Cas à <i>Plasmodium falciparum</i> seul, caractéristiques de la parasitémie en fonction de l'état clinique, de l'âge et de la zone d'origine en 2014 .....	48
<b>Tableau 25</b> . Cas à <i>Plasmodium falciparum</i> seul, caractéristiques hématologiques des cas en fonction de l'état clinique en 2014. ....	49
<b>Tableau 26</b> . Molécules utilisées en chimioprophylaxie en fonction de l'observance déclarée pour la population totale à <i>Plasmodium falciparum</i> en 2014 (n=409).....	50

<b>Tableau 27.</b> Interprétation après dosage plasmatique des échecs chimioprophylactiques pour une partie des accès à <i>P. falciparum</i> (n=152) .....	51
<b>Tableau 28.</b> Utilisation des médicaments de première intention en fonction du type d'accès et de l'âge pour l'ensemble de la population.....	52
<b>Tableau 29.</b> Evolution dans le temps (2006-2014) de la prescription en traitement initial de <i>P. falciparum</i> .....	53
<b>Tableau 30 :</b> Evolution dans le temps (2006-2014) de la prescription en traitement initial de <i>P. vivax</i> , <i>P. ovale</i> et <i>P. malariae</i> .....	53
<b>Tableau 31.</b> Efficacité thérapeutique jugée sur la présence de formes asexuées dans le sang lors des contrôles programmés à J3-J4 ; J7 +/-1 et J28 +/-2 pour la population totale. ....	54
<b>Tableau 32.</b> Classification des évolutions cliniques et parasitologiques des accès palustres. Comparaison des cas déclarés avec les cas retenus pour l'analyse des résistances en fonction de l'évolution clinique et parasitologique des accès en 2014 .....	54
<b>Tableau 33.</b> Contrôle parasitologique des accès palustres à <i>P. falciparum</i> analysés pour l'année 2014 (n=2001). .....	55
<b>Tableau 34.</b> Proportion d'isolats sauvages et mutés pour le génotype <i>pfprt</i> K76T par pays en 2013..	68
<b>Tableau 35 :</b> Proportion d'isolats sauvages et mutés pour le génotype <i>pfmdr1</i> N86Y par pays en 2014.....	69
<b>Tableau 36 :</b> Proportion d'isolats mutés pour le gène K13 par pays en 2014 .....	70
<b>Tableau 37 :</b> Évolution de la prise de chimioprophylaxie déclarée des cas de paludisme graves et simples de 2000 à 2014.....	84
<b>Tableau 34.</b> Outils de communication utilisés pour la diffusion des données de surveillance, les productions et les activités du CNR Paludisme. ....	108
<b>Tableau 35.</b> Agenda des réunions des groupes de travail en vue de l'élaboration d'un plan de lutte contre le paludisme en Guyane. ....	109

# 1. Missions et organisation du CNR

Certaines organisations des différents laboratoires (laboratoire coordonnateur et laboratoires associés) du CNR du paludisme ont été modifiées en 2014 par rapport à 2013.

Concernant l'organisation pratique des laboratoires :

- Pôle Antilles-Guyane : Les annexes ont été mises à jour essentiellement concernant la taille des collections. Pas de changements majeurs en 2014 par rapport à 2013.
- Pôle Métropole : la composition de l'équipe du laboratoire associé IRBA de Marseille a été mise à jour en annexe 1.

La démarche qualité du laboratoire coordonnateur AP-HP, plateforme de l'hôpital Bichat a été actualisée : le laboratoire de biologie multisite sur le GH HUPNVS (groupe hospitalier des hôpitaux universitaires Paris nord val de Seine) dont l'hôpital Bichat, a été accrédité en 2014 (accréditation partielle) et a déposé une demande d'accréditation complémentaire en 2015 dont le diagnostic du paludisme, qui sera expertisé en 2016 par le COFRAC. Le laboratoire de parasitologie du GH Pitié Salpêtrière a déposé une demande d'accréditation du paludisme en 2015.

## Conseil scientifique du CNR

Le CNR du Paludisme a mis en place un conseil scientifique qui veille à la cohérence de la stratégie scientifique du CNR au regard des développements récents des connaissances et du contexte international. Il formule des avis et des propositions sous forme de recommandations sur les orientations de recherche et sur les aspects scientifiques des analyses des données. Il est placé auprès du comité de coordination du CNR du Paludisme, et est consulté par lui. Le conseil scientifique donne son avis et émet des recommandations sur i/ la pertinence des projets de recherche qui lui sont proposés, leur faisabilité et leurs délais de réalisation, ii/ la cohérence d'ensemble des programmes de surveillance et sur l'organisation du réseau de correspondants, iii/ le respect de la propriété intellectuelle des correspondants suite à l'analyse des données recueillies grâce à leurs déclarations. Le conseil scientifique a un rôle consultatif, le rôle décisionnel restant au comité de coordination, constitué des quatre responsables des laboratoires du CNR.

Le conseil scientifique comprend quatorze membres : sept membres élus par leurs pairs dont le président du conseil, parmi lesquels quatre biologistes représentants les correspondants du réseau du CNR du Paludisme, et sept membres nommés par le comité de pilotage du CNR du Paludisme qui a sollicité des sociétés savantes et des organisations scientifiques pour qu'elles proposent un membre concerné par le paludisme pour les représenter au conseil scientifique du CNR.

Le conseil scientifique se réunit au moins une fois par an, sur convocation de son président, et le cas échéant à la demande du comité de coordination : un quorum de 50% de ses membres participant à la réunion (présentiel ou audio conférence ou vidéoconférence) doit être respecté. Les décisions du conseil scientifique sont votées à la majorité relative.

Les membres représentants des correspondants au Conseil Scientifique ont été élus lors de la réunion nationale en décembre 2014 ; la procédure de nomination des personnalités représentatives des sociétés savantes et organisations scientifiques est achevée, le conseil scientifique pourra se mettre en place au cours du premier semestre 2015. La composition du conseil scientifique ainsi que ses statuts sont présentés en annexe.

## 2. Activités d'expertise

### 2.1 Evolution des techniques

#### 2.1.1 Pôle Métropole

##### 2.1.1.1 Laboratoire coordonnateur AP-HP

Les activités du laboratoire coordonnateur sont partagées entre l'hôpital Bichat, APHP, Paris et l'hôpital Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris.

##### Plateforme de Bichat, AP-HP

Les techniques réalisées en 2014 sont les mêmes que l'année précédente dont celles mises en place en 2013 (PCR temps réel pour le diagnostic d'espèce et pour les marqueurs moléculaires de résistance).

##### Mise en place du séquençage du gène *K13-propeller*

Fin 2013, le gène *K13-propeller* a été identifié comme impliqué dans la résistance *in vitro* aux dérivés de l'artémisinine. Plusieurs mutations ont été mises en évidence comme impliquées dans la résistance à l'artémisinine en Asie (Ariey et al 2014). Nous avons adapté réalisé la recherche de ces mutations par séquençage sur les isolats du CNR. Dans le cadre de la participation du CNR au protocole KARMA (K-13 Artemisinin Resistance Multicentre rapid Assessment) mis en place par le Réseau des Instituts Pasteur (RIIP), plus de 1000 isolats ont été inclus dans le projet.

##### Plateforme de la Pitié Salpêtrière, AP-HP

Les techniques réalisées sont les mêmes que celles de l'année précédente.

##### 2.1.1.2 Laboratoire associé IRBA

##### **Mise en place en systématique du séquençage du gène *K13-propeller***

Fin 2013, le gène *K13-propeller* a été identifié comme impliqué dans la résistance *in vitro* aux dérivés de l'artémisinine (augmentation de la clairance parasitaire *in vitro* lors du 'ring stage assay') et dans l'augmentation du temps de clairance parasitaire *in vivo* en Asie. Plusieurs mutations ont été mises en évidence comme impliquées dans la résistance à l'artémisinine en Asie (Ariey et al 2014). Nous avons adapté la technique de séquençage et réalisé en systématique sur tous les isolats du CNR.

#### 2.1.2 Pôle Antilles-Guyane : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane

##### **Acquisition de la technique de phénotypage vis à vis des dérivés de l'artémisinine : Ring Survival Assay (RSA)**

Cette méthode évalue la capacité des parasites à survivre à une exposition à 600nM d'antipaludique pendant 6h. Cette méthode mime au plus près ce qui se passe chez les patients traités par dérivés de l'artémisinine. Elle utilise des parasites synchronisés dans une fenêtre de temps très courte (3h) qui viennent juste de ré-envahir les globules rouges. Elle peut être réalisée assez facilement sur des échantillons fraîchement prélevés (méthode *ex vivo*) ou à partir d'isolats adaptés à la multiplication *in vitro* (méthode *in vitro*). Cette dernière est de mise en œuvre beaucoup plus complexe avec deux synchronisations (sorbitol et percoll) à des moments bien précis.

Le résultat est exprimé en pourcentage de parasites survivant par rapport à la cupule contrôle ne contenant que du solvant. Les isolats présentant un taux de survie supérieur à 1% sont dits résistants.

En 2013, Béatrice Volney, la technicienne de laboratoire du pôle AG, a été se former à cette technique à l'Institut Pasteur du Cambodge dans le laboratoire d'épidémiologie moléculaire du paludisme dirigé par Didier Ménard, qui a mis au point cette technique (Witkowski et al. 2013).

2014 a été l'année de la mise en pratique de la technique. Les tests *in vitro* sont très lourds à mettre en œuvre, avec le début du test par une synchronisation à 1h du matin avec des lavages à 21h le jour suivant pour terminer le test à 15h à J5. Les résultats obtenus à l'aide de cette technique seront présentés dans le détail dans le paragraphe dédié à la survie des parasites en présence de dérivés de l'artémisinine.

## 2.2 Présentation des activités d'expertise et de leur évolution

### 2.2.1 Pôle Métropole

#### 2.2.1.1 Nombre de souches réceptionnées

On retrouve en 2014, sur la base sécurisée Internet <https://ssl.voozadoo.net/palu> du CNR du Paludisme :

- 2299 fiches déclarées (dont 2 cas de paludisme autochtone) par 85 hôpitaux (dont 5 militaires) et 1 Département d'Epidémiologie et de Santé Publique (DESP)
- 1807 isolats transmis à l'APHP plateforme de Bichat (n=1578) et à l'IRBA (n=222) par 71 hôpitaux correspondants du CNR qui participent à l'expertise biologique des isolats des *Plasmodium sp.* Toutes les lames ont été examinées et conservées, tous les ADN ont été extraits et cryoconservés, les plasmas ont été cryoconservés et dosés, les isolats de *P. falciparum* ont été phénotypés et génotypés.
- 661 échantillons de sang (+56 %, n=424 en 2013) de 310 patients (+55 %, n=200 en 2013), en provenance de 52 hôpitaux pour la mesure du « pitting » naturel (épépinage des remnans parasitaires) dans le cadre de la surveillance thérapeutique des accès graves. On compte 197 accès graves (+66 %, n=119 en 2013) dont 192 (97 %) adressés par les correspondants du réseau (62 % de couverture des accès graves des correspondants du réseau du CNR du paludisme, contre 47% en 2013). Sont également pris en charge avec les mêmes techniques 51 accès simples avec une parasitémie  $\geq 4\%$  (+112 % n=24 en 2013.), 58 accès simples avec une parasitémie  $< 4\%$  (sans changement par rapport à 2013 n=57) et 4 avec une parasitémie non renseignée, utilisés comme témoins pour des molécules autres que l'artésunate.

#### 2.2.1.2 Les tests phénotypiques

En 2014, les laboratoires du CNR ont reçu 1807 isolats (dont 1740, soit 87.0% de *Plasmodium falciparum*) correspondant à 1755 patients (2 à 5 isolats étudiés chez 52 patients) transmis par 71 hôpitaux métropolitains. Parmi l'ensemble des isolats reçus, seuls 466 sont pu être phénotypés en raison des contraintes techniques : délais de transmission du prélèvement, viabilité des parasites et parasitémie compatible avec les techniques mises en œuvre

#### 2.2.1.3 Les tests génotypiques

En 2014, 1331 isolats de *P. falciparum* ont été génotypés et plus particulièrement :

- l'étude du gène *pfcr1* impliqué dans la résistance à la chloroquine a été réalisée sur 1153 isolats de *P. falciparum*,
- l'étude du gène *pfcytb* impliqué dans la résistance à l'atovaquone a été réalisée pour 1143 isolats,
- l'étude du gène *pfmdr1* impliqué dans la résistance à la méfloquine et à la luméfantine, a été réalisée pour 865 isolats,
- la recherche de mutations dans le gène K13-propeller impliquées dans la résistance aux dérivés de l'artémisinine a été réalisée pour 1256 isolats de *P. falciparum*.

#### 2.2.1.4 Analyse de l'évolution des tendances en termes d'activités

En 2014, la transmission des prélèvements pour analyse biologique par nos correspondants est satisfaisante (

**Tableau 1**Erreur ! Source du renvoi introuvable.). Le nombre d'isolats transmis par les hôpitaux correspondants est élevé, l'ensemble de ceux-ci étant invité à transmettre leurs échantillons, pour confirmation du diagnostic d'espèce plasmodiale ; la proportion d'isolats adressés est d'environ 83.0%. Plusieurs hôpitaux correspondants incluent les résultats rendus par le CNR sur les échantillons qu'ils ont

transmis, pour constituer leurs dossiers de validation de méthodes de leurs demandes d'accréditation pour l'analyse de diagnostic du paludisme auprès du COFRAC.

La proportion d'isolats phénotypés reste stable, cette activité est très contrainte par les exigences de qualité pour la conservation des échantillons, tributaire des délais de transmission des prélèvements sanguins, et sous la dépendance d'une parasitémie minimum pour obtenir la croissance cellulaire du parasite : l'ensemble de ces éléments limite l'obtention de résultats.

La transmission des prélèvements en provenance de la Réunion mise en place en 2013, n'a pas perduré en 2014 mais a été initiée de nouveau en 2015, en collaboration avec l'ARS locale. La transmission des prélèvements de Nouméa est fonction du nombre de cas observés localement.

En 2014, la transmission des isolats collectés à Mayotte a été initiée : les isolats de 2013 et de 2014 ont été transmis.

**Tableau 1** : Evolution du pourcentage d'isolats transmis à un des sites d'analyse du CNR du Paludisme entre 2006 et 2014 par hôpital correspondant

Hopitaux	Groupe	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Aix en Provence	IRBA		100		100	80	100		66.7	9.1
Ales	AP-HP									0
Amiens	AP-HP	75	100	100	100	96	100	93	100	100
Angers	AP-HP		100	83	100	100	100	100	100	93.8
Arles	AP-HP								0	0
Aulnay sous-bois	AP-HP	98	95	100	100	100	100	100	100	100
Beaujon	AP-HP								100	100
Besançon	AP-HP		83	100	100	100	100	100	100	100
Bicêtre	AP-HP		60	51	77	90	97	93	100	91.1
Bobigny-Avicenne	AP-HP	100	98	98	100	100	100	100	97.4	100
Bondy-Jean Verdier	AP-HP	98	89	97	100	98	100	100	100	100
Bordeaux	IRBA		18	12	32	69	92	82	80	89.1
Boulogne-Ambroise Paré	AP-HP	4	68	92	100	91	100	93	90.9	86.7
Brest	AP-HP		75	50	100	75	100		100	100
Brest Clermont Tonnerre	AP-HP						75	100	100	100
CNR	IRBA								20.5	
Chambery	IRBA					25	60	100	80	100
Clamart	AP-HP								3.3	9.1
Clermont-Ferrand	AP-HP		100	100	100	100	93	100	100	95.5
Colombes-Louis Mourier	AP-HP	88	97	85	100	100	87	100	100	89.7
Corbeil Essonne	AP-HP								8.6	2.4
Creil	AP-HP			70	100	96	100	88	100	100
Créteil-Henri Mondor	AP-HP		87	97	90	95	95	92	81.8	86.2
Dijon	AP-HP	100	73	100	100	100	100	100	100	100
Dole	AP-HP								0	0

Fontainebleau	AP-HP								0	0
Fréjus St Raphaël	IRBA			50	29	100	100	100	100	66.7
Grenoble	IRBA		100	90	100	100	95	100	100	95.5
La Roche sur Yon	AP-HP								22.2	12.5
La Réunion	AP-HP								100	
Laval	AP-HP								0	0
Le Havre	AP-HP	100	91	100	100	100	100	100	100	80
Le Mans	AP-HP						48	100	94.1	100
Lille	AP-HP						100	100	100	100
Limoges	AP-HP		8	73	63	94	100	100	100	92.3
Longjumeau	AP-HP								0	0
Lyon-Rockefeller-HEH	AP-HP		61	97	89	94	83		1.4	1.2
Mantes-la-Jolie	AP-HP		100	100	100	100	100	100	100	
Marseille-DESP-Sud	AP-HP								0	1.9
Marseille-HIA Laveran	IRBA		73	76	70	65	57		48.1	68.8
Marseille-Nord	IRBA		92	72	55	79	0		100	100
Marseille-Timone	IRBA		80	87	100	91	80	75	75	0
Hopitaux	Groupe	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Meaux	AP-HP						14		0	0
Metz Legouest	IRBA								100	
Montpellier	IRBA		29	80	36	43	70	83	97.5	92.1
Mulhouse	AP-HP		50	100	100	100	100	100	100	100
Nancy	AP-HP	7	10	77	98	67	100	100	96.2	92.3
Nantes	AP-HP	2	85	98	100	99	100	95	86.9	79
Nice	IRBA	2	78	95	100	100	96	90	95.8	100
Nîmes	AP-HP			21	67	22	8		0	0
Niort	AP-HP			100	100	100	100	100	100	100
Noumea	AP-HP								100	
Orleans	AP-HP							98	84.8	100
Paris Inst Pasteur	AP-HP						14		27.8	0
Paris-Bichat	AP-HP	100	100	100	97	100	100	100	100	100
Paris-Cochin	AP-HP	4	91	97	100	97	100	100	100	95.7
Paris-HEGP	AP-HP					100	100	95	94.4	71.9
Paris-HIA Begin	AP-HP	42	93	85	95	97	92	97	73.5	72.5
Paris-Lariboisière	AP-HP				100	97	100	100	100	95.6
Paris-Necker	AP-HP		62	70	77	100	100	97	93.8	100
Paris-Pitie-Salpêtrière	AP-HP	11	97	99	99	99	100	87	85.6	81.6
Paris-Robert Debré	AP-HP	97	89	100	92	98	98	96	100	98
Paris-Saint-Antoine	AP-HP		83	71	78	89	95	91	96.6	97.1

Paris-Saint-Louis	AP-HP						4		88.2	92.3
Paris-Tenon	AP-HP		44	72	84	91	98	98	80.3	86
Paris-Trousseau	AP-HP		70	46	47	73	86	100	100	45.5
Poitiers	AP-HP		33	95	95	100	100	100	96.9	94.1
Pontoise	AP-HP			100	92	97	9		0	
Reims	AP-HP		100	100	88	100	93	92	100	100
Rennes	AP-HP		67	100	100	100	96	100	100	93.8
Rouen	AP-HP								3.4	88.9
Saint-Brieuc	AP-HP								0	0
Saint-Denis	AP-HP	100	98	99	88	100	99	99	91.8	97.1
Saint-Etienne	AP-HP								0	8.3
Saint-Malo	AP-HP						50		0	100
Saint-Nazaire	AP-HP								0	100
Strasbourg	AP-HP	10	100	100	84	100	100	87	93.5	81.3
Toulon Naval	IRBA			64	100	100	73		100	95.1
Toulouse-Rangueil	IRBA			19	90	94	100	86	89.8	94.1
Tourcoing	AP-HP	7	96	92	81	100	100	86	73.7	64.3
Tours	AP-HP		75	100	95	93	96	100	95.2	100
Troyes	AP-HP						100	100	83.3	100
Valenciennes	AP-HP						100		100	100
Vannes	AP-HP								20	0
Versailles	AP-HP	10	96	100	80	100	100	90	100	100
Villeneuve Saint-Georges	AP-HP						3		13.8	69.6

### 2.2.1.5 Production d'un programme d'évaluation externe de la qualité à destination des correspondants du CNR

Afin d'aider les laboratoires hospitaliers d'analyse correspondants du CNR du paludisme dans leur démarche d'accréditation, le CNR du paludisme, site de Bichat, a produit un programme d'évaluation externe de la qualité qui comprenait :

- un frottis mince fixé non coloré
- une goutte épaisse fixée non colorée
- un aliquote de sang lyophilisé pour la détection des antigènes par tests immunochromatographiques ou pour le diagnostic moléculaire par PCR du paludisme.

Les échantillons étaient envoyés selon la demande du laboratoire participant : frottis seul, frottis + goutte épaisse +/- échantillon lyophilisé.

Soixante-quatre laboratoires ont participé au programme dont 27 laboratoires de parasitologie, 20 laboratoires polyvalents, 11 laboratoires de microbiologie, 2 laboratoires d'hématologie :

- sur les 63 résultats reçus à partir des frottis sanguins, il y a eu **62 réponses correctes** (1 résultat faussement négatif) avec l'identification par les 62 laboratoires de l'espèce *Plasmodium falciparum*
- les 45 laboratoires qui ont techniqué la goutte épaisse ont rendu un résultat positif avec une identification correcte d'espèce pour 36 laboratoires
- 13 laboratoires ont identifiés des gamétocytes de *P. falciparum* sur les lames reçues
- 3 laboratoires ont confirmés leurs résultats par PCR
- 63/64 laboratoires ont réalisé un test de diagnostic rapide.



## Bilan des réponses - Commentaires

Au vu de ces résultats, tous les participants au contrôle de qualité ont fait le juste diagnostic d'un accès palustre à *P. falciparum*. Les parasitémiées transmises ont été fréquemment imprécises (inférieure à X%) alors qu'un résultat chiffré était attendu. Les résultats des différents tests de diagnostic rapide (TDR) mis en œuvre par les participants confirment la bonne sensibilité des réactifs utilisés pour la détection de l'HRP2 : le résultat faussement négatif peut-être dû à un problème de reconstitution ou de manipulation de matériel de contrôle (délai entre la reconstitution et la réalisation du test). En revanche, la détection des antigènes communs, pLDH ou aldolase, est moins sensible, fonction du réactif, ou du lot, ou des difficultés de lecture éventuelles.

Cet envoi test nous a permis de valider notre volonté de proposer un programme d'EEQ qui permette le contrôle de l'ensemble du processus de ce diagnostic (à l'exception de la réalisation des lames, mais l'envoi et la mise à disposition d'un échantillon sanguin infecté est complexe) et de proposer un EEQ pour les TDR pour la détection d'autres antigènes que l'HRP2, ce qui complète l'offre actuelle des organismes de contrôles de qualité.

Les retours sur la qualité de l'envoi sont bons (2 lames reçues cassées seulement) ; en revanche, la goutte épaisse devait être rapidement colorée car un délai trop long inhibe la déshémoglobination lors de la coloration. Un nouvel envoi d'EEQ sera réalisé selon les mêmes modalités au cours de l'année 2015.

La liste des participants à ce programme de qualité est en annexe.

### 2.2.2 Pôle Antilles – Guyane

#### 2.2.2.1 Nombre et niveau de caractérisation des isolats reçus au LA-AG

En 2014, le LA-AG a reçu 216 isolats positifs de 8 partenaires (Laboratoire de Biologie Médicale - LBM, Hôpitaux ou Centres Délocalisés de Prévention et de Soins de Guyane - CDPS). Parmi ces isolats, on en dénombrait 79 infectés par *P. falciparum*, 123 par *P. vivax*, 14 co-infectés par *P. falciparum* et *P. vivax*. Ont également été reçus, trois isolats négatifs et trois dont la classification n'a pas été effectuée. Les activités d'expertises du LA-AG concernent essentiellement l'étude des isolats de *P. falciparum* collectés en Guyane et aux Antilles avec : i) les tests phénotypiques, *ex vivo* et *in vitro* selon la méthode isotopique classique et la technique RSA plus spécifiquement pour les dérivés de l'artémisinine, et ii) les tests génotypiques sur les marqueurs de résistance.

#### 2.2.2.2 Les tests phénotypiques

En 2013, 98 tests *in vitro* de chimiosensibilité ont été effectués avec un pourcentage de succès de la méthode de 87% pour la chloroquine et la plupart des molécules, excepté la pipéraquline. En effet, pour cette molécule, il semblerait que certains isolats soient impossibles à phénotyper par la méthode classique. Ont-ils un phénotype différent des phénotypes sensibles généralement observés ? Cette question sera approfondie dans les années à venir. Ainsi, la chimiosensibilité à 11 molécules de 85 isolats de *P. falciparum* a pu être déterminée. La mise en culture systématique des isolats a permis cette année de typer *in vitro* 63 isolats soit 75% des valeurs. Dans notre contexte de diminution du nombre de cas, cette adaptation systématique des isolats à *P. falciparum* est fondamentale car elle nous permet de maintenir un niveau de caractérisation phénotypique constant, voire en augmentation, malgré une diminution de moitié du nombre de cas recensés dans la région. En l'absence d'adaptation, seules 22 valeurs auraient été disponibles.

#### 2.2.2.3 Les tests génotypiques

Ces activités portent sur :

- l'étude du gène *pfcytb*, impliqué dans la résistance à l'atovaquone-proguanil, qui a été réalisée pour 104 isolats de *P. falciparum* parmi lesquels 16 étaient ininterprétables.
- l'étude du gène *pfK13*, impliqué dans la résistance aux dérivés de l'artémisinine, qui a été réalisée pour 77 isolats de *P. falciparum*.

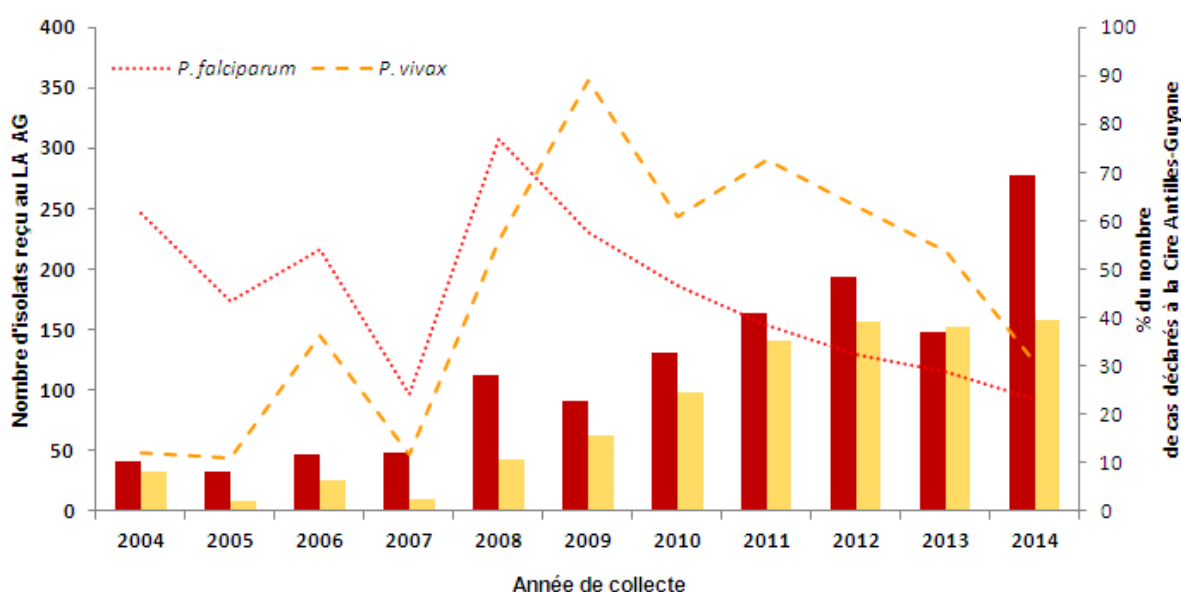
#### 2.2.2.4 Analyse de l'évolution des tendances en termes d'activités

La proportion d'isolats reçus par le LA-AG par rapport au nombre de cas déclarés en Guyane est en augmentation, 69,40% en 2014 vs 37,46% en 2013 pour *P. falciparum* et 39,55% en 2014 vs 37,72% en 2013 pour *P. vivax* (Figure 1). Une sensibilisation importante et conjointe avec la Cire et le laboratoire de parasitologie de l'hôpital a porté ses fruits notamment auprès du CDPS de Maripa Soula. Le niveau d'exhaustivité atteint est plus qu'acceptable, nous redoublerons cependant d'effort en 2015 concernant certains CDPS de l'Oyapock et du Maroni en y incluant l'hôpital de St Laurent.

Le nombre absolu d'échantillons reçus est plus faible qu'en 2013 (216 vs 336) et s'explique par la très forte diminution du nombre de cas déclarés à la Cire (-51% par rapport à 2013).

En 2014, le nombre de tests *in vitro* réalisés s'est maintenu et la mise en culture systématique des isolats a permis d'augmenter l'activité de phénotypage malgré cette diminution du nombre de cas reçus.

Le volume des activités de génotypage est corrélé au nombre d'isolats reçus avec l'analyse des marqueurs de résistance (*pfK13* et *pfcyt8*) de *P. falciparum* pour la quasi-totalité des isolats reçus.



**Figure 1.** Recrutement réalisé entre 2004 et 2014 du laboratoire associé, région Antilles-Guyane, en Guyane.  
 Courbes : nombre absolu d'isolats reçus.  
 Histogrammes : proportion d'isolats collectés en fonction du nombre de cas déclarés à la Cire Antilles-Guyane,

### 2.2.2.5 Nombre d'échantillons issus des collections du CNR mis à disposition d'autres laboratoires

En 2014, aucun échantillon n'a été mis à disposition d'un autre laboratoire faute de demande.

## 3 Activités de surveillance

### 3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques du paludisme

#### 3.1.1 Réseau de partenaires

##### 3.1.1.1 Pôle métropole

Le réseau du CNR du Paludisme qui repose sur 83 correspondants hospitaliers réguliers et sur trois laboratoires référents, est maintenant établi sur des bases solides. La représentativité du réseau est

stable depuis 2006 entre 52 et 53 % selon les années (peu de nouveaux correspondants, peu d'arrêts de déclaration des correspondants historiques). La dernière enquête exhaustive nationale ayant été réalisée avec l'AFSSAPS en 2008, une nouvelle enquête a été réalisée en 2014 en lien avec l'ANSM pour valider les chiffres estimés calculés par le CNR.

**Description de l'enquête**

Afin d'évaluer la proportion de cas de paludisme rapportés par les laboratoires de biologie médicale (LBM) des hôpitaux civils et militaires, et les laboratoires d'analyse de biologie médicale correspondants du CNR du Paludisme pour la France métropolitaine, une enquête nationale est menée conjointement avec l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM). Cette enquête 2014 est basée sur un questionnaire proposé à l'ensemble des laboratoires qui réalisent le diagnostic de paludisme en France, en même temps qu'est adressé le contrôle national de qualité « CNQ parasito 14PAR1 » de l'ANSM. Elle concerne les demandes de diagnostic et les cas diagnostiqués en 2013 par les laboratoires. Le questionnaire est établi sur la base des questionnaires précédents (2004 et 2007) par Muriel Fromage de l'ANSM et Éric Kendjo, Sandrine Houzé et Marc Thellier du CNR du Paludisme. Le questionnaire comporte 5 questions formulées de la manière suivante :

**QUESTION 1 : Nombre de cas de paludisme (\*) observés par diagnostic direct dans votre laboratoire pendant la période du 01.01.2013 au 31.12.2013**      |\_\_|\_\_|\_\_|\_\_|

(\*) : Un cas correspond à un patient ayant présenté une parasitémie vérifiée en microscopie optique ou par détection d'antigène. Les examens successifs de contrôle ou de surveillance d'un même accès concernant un même patient ne doivent pas être pris en compte.

**QUESTION 2 : Nombre total de demandes de recherche de paludisme dans votre laboratoire pendant même période**      |\_\_|\_\_|\_\_|\_\_|

**QUESTION 3 : Nombre de patients concernés par ces demandes**      |\_\_|\_\_|\_\_|\_\_|

**QUESTION 4 : Si possible, indiquez la répartition des cas positifs (en effectif) par espèce :**

- 4.1- *Plasmodium falciparum*      |\_\_|\_\_|\_\_|\_\_|
- 4.2- *Plasmodium vivax*      |\_\_|\_\_|\_\_|\_\_|
- 4.3- *Plasmodium ovale*      |\_\_|\_\_|\_\_|\_\_|
- 4.4- *Plasmodium malariae*      |\_\_|\_\_|\_\_|\_\_|
- 4.5- *Plasmodium knowlesi*      |\_\_|\_\_|\_\_|\_\_|
- 4.6- Infections mixtes      |\_\_|\_\_|\_\_|\_\_|
- 4.7- Plasmodium spp (espèce non identifiée)      |\_\_|\_\_|\_\_|\_\_|

**QUESTION 5 : Quelles sont les techniques actuellement utilisées dans votre laboratoire ?**

- 1- Frottis sanguin      |\_\_|
  - 2- Goutte épaisse      |\_\_|
  - 3- Test de diagnostic rapide (détection antigènes)      |\_\_|
  - 4- Biologie moléculaire (PCR)      |\_\_|
  - 5- Autre      |\_\_|
- Si autre, précisez : .....

Le questionnaire est accessible uniquement par voie électronique sur le site de l'ANSM. L'enquête 2014 sur les données 2013 est ouverte le 24 septembre 2014 et elle est clôturée le 20 octobre 2014. Les données vérifiées par l'ANSM sont transmises au CNR du Paludisme sur un fichier électronique type tableur Excel, une première fois le 15 décembre 2014 (V0) puis une seconde fois le 20 février 2015 (V1) après corrections portant sur des codes identifiant de 9 laboratoires et ajout des données d'un laboratoire initialement classé « non répondant ».

A partir du fichier transmis, le CNR du Paludisme :

- sélectionne les laboratoires localisés en France métropolitaine
- évalue la cohérence des données saisies (avec N= valeur saisie et 1, 2, 3, 4 correspondants aux numéros des questions posées):
  - ✓ pour chaque laboratoire répondant,  $N2 \geq N3 \geq N1 \geq N4.1$  ou  $N4.2$  ou  $N4.3$  ou  $N4.4$  ou  $N4.5$  ou  $N4.6$  ou  $N4.7$
  - ✓ N1 doit être < à 150 (valeur correspondant au chiffre transmis par la structure du CNR qui diagnostique le plus grand nombre de cas de paludisme sur le territoire national arrondi à la dizaine supérieure)

- ✓ Lorsque N1 est >10, N4.1 (*P. falciparum*) > N4.2 ou N4.3 ou N4.4 ou N4.5 ou N4.6 ou N4.7 (autres espèces)
- ✓ La somme de N4.1+ N4.2+...+N4.6+ N4.7=N1

En cas de discordance pour l'un de ces contrôles, une inversion des chiffres entre les items ou des oublis de remplissage de certains items sont repérés et le/les laboratoires concernés sont contactés pour vérification.

Après vérification et correction des erreurs, le nombre de cas de paludisme diagnostiqués pour la France métropolitaine est établi en tenant compte :

- ✓ des doublons générés par les transferts de la ville vers l'hôpital,
- ✓ des doublons générés par les transferts inter hospitaliers,
- ✓ des cas de paludisme non déclarés par les LBM réalisant ce diagnostic (répondant au CNQ de l'ANSM et non répondant au questionnaire du CNR du Paludisme)

La valeur de référence pour le nombre de cas de paludisme d'importation diagnostiqués par les LBM en France métropolitaine pour l'année du contrôle national de qualité en parasitologie de l'ANSM moins 1 année est par convention nommée AnRef de l'année CNQ\_ANSM-1 (pour l'enquête menée en 2014 AnRef\_2013, avec

$$\text{AnRef} = (\text{N1}-\text{T1}) + (\text{N1}'-\text{T1}')$$

$$\text{Avec } \text{T1} = \text{tvh} \cdot \text{NV} + \text{thh} \cdot \text{NH} ; \text{T1}' = \text{tvh} \cdot \text{NV}' + \text{thh} \cdot \text{NH}' \text{ et } \text{N1} = \text{NV} + \text{NH} ; \text{N1}' = \text{NV}' + \text{NH}'$$

N1 = nombre de cas de paludisme transmis par l'ensemble des LBM de France métropolitaine répondants à l'enquête du CNR du Paludisme.

N1' = nombre de cas de paludisme estimé pour l'ensemble des LBM de France métropolitaine non répondants à l'enquête.

NH = nombre de cas de paludisme transmis par les LBM hospitaliers de France métropolitaine répondants à l'enquête.

NV = nombre de cas de paludisme transmis par les LBM privés (de ville) de France métropolitaine répondants à l'enquête.

NH' = nombre de cas de paludisme estimé pour les LBM hospitaliers de France métropolitaine non répondants à l'enquête. L'estimation pour chaque LBM hospitalier non répondant à l'enquête correspond à la médiane des cas diagnostiqués par les LBM hospitaliers répondant à l'enquête.

NV' = nombre de cas de paludisme estimés pour les LBM privés (de ville) de France métropolitaine non répondants à l'enquête du CNR du paludisme. L'estimation pour chaque LBM privé (de ville) non répondant à l'enquête correspond à la médiane des cas diagnostiqués par les LBM privés répondant à l'enquête, par région de localisation

T1 = nombre estimé de cas transférés pour les laboratoires répondants à l'enquête (doublons ville vers hôpital ou hôpital vers hôpital),

T1' = nombre estimé de cas transférés pour les laboratoires non répondants à l'enquête, (doublons ville vers hôpital ou hôpital vers hôpital)

tvh = pourcentage de cas de paludisme avec un diagnostic positif transféré de la ville vers l'hôpital (doublons transferts ville/hôpital). Il est calculé à partir des données du réseau du CNR du paludisme en utilisant la moyenne des transferts de la ville vers l'hôpital des trois dernières années.

thh = pourcentage de cas de paludisme avec un diagnostic positif transféré de l'hôpital vers l'hôpital (doublons transferts inter hospitaliers). Il est calculé à partir des données du réseau du CNR du paludisme en utilisant la moyenne des transferts inter hospitaliers des trois dernières années.

## Résultats

Un total de 1241 LBM a été sollicité pour le contrôle de qualité de l'ANSM 14PAR1, 34 (2,7 %) ne réalisaient pas le diagnostic de paludisme. Parmi les 1207 LBM réalisant le diagnostic, 76 (6,3 %) étaient localisés hors métropole. Au final **1131 LBM** sont inclus dans l'analyse. Parmi eux, 350 (30,9 %) sont des structures hospitalières dont 336 LBM d'hôpitaux civils, 10 LBM d'hôpitaux militaires et 4 Centres anticancéreux, et 781 (69,1 %) sont des structures privées dites « de ville ».

Un total de 255 LBM (22,5 %) n'a pas répondu au questionnaire du CNR du Paludisme, 167 LBM privés parmi 781 (21,4 %) et 82 LBM hospitaliers parmi 350 (23,4 %).

### Evaluation de la représentativité du réseau

La médiane de cas déclarés pour les laboratoires hospitaliers était de 3, les médianes par régions sont représentées dans le Tableau 2 .

**Tableau 2** : médianes régionales des cas de paludisme diagnostiqués en France métropolitaine en 2013 (enquête ANSM 2014)

Laboratoires hospitaliers	N	mean	sd	min	max	p50	p25	p75
Aquitaine-Poitou-Charentes-Limousin	27	5,9	8,6	0	29	2	0	11
Auvergne-Rhone-Alpes	30	7,2	18,5	0	100	2	1	5
Bourgogne-Franche-Comté	20	3	3,8	0	13	2	1	4
Bretagne	14	5,1	8,6	0	33	2	1	5
Centre	10	7,2	9,9	0	34	4,5	1	8
Champagne Ardennes-Lorraine-Alsace	25	3,6	6,9	0	25	1	0	3
Corse	2	1	1,4	0	2	1	0	2
Ile de France	48	28,9	30,8	0	137	<b>21</b>	5	42
Midi-Pyrenees-Languedoc-Roussillon	25	10,3	24,4	0	118	3	0	7
Nord-Pas de Calais-Picardie	29	4,2	8	0	32	1	0	4
Normandie Basse-Normandie Haute	14	5,1	9,3	0	35	2	0	6
PACA	21	6,4	10,2	0	45	3	2	5
Pays de Loire	11	12,9	17,7	0	60	6	2	15
<b>Total</b>	<b>276</b>	<b>10,1</b>	<b>19,5</b>	<b>0</b>	<b>137</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>8</b>

Laboratoires privés	N	mean	sd	min	max	p50	p25	p75
Aquitaine-Poitou-Charentes-Limousin	51	1,2	2	0	11	<b>1</b>	0	2
Auvergne-Rhone-Alpes	77	0,7	1,5	0	7	0	0	1
Bourgogne-Franche-Comté	30	0,8	1,4	0	7	0	0	1
Bretagne	36	0,7	1	0	4	0	0	1
Centre	18	1,6	2,4	0	8	0	0	2
Champagne Ardennes-Lorraine-Alsace	49	1,3	2,4	0	8	0	0	1
Corse	4	1,3	1,3	0	3	<b>1</b>	1	2
Ile de France	148	4,6	11,3	0	88	1	0	4
Midi-Pyrenees-Languedoc-Roussillon	53	1,5	2,6	0	12	0	0	2
Nord-Pas de Calais-Picardie	55	0,7	2,2	0	15	0	0	1
Normandie Basse-Normandie Haute	42	0,5	0,8	0	3	0	0	1
PACA	60	2,3	12,9	0	100	0	0	1
Pays de Loire	30	1,3	2,2	0	9	<b>1</b>	0	2
<b>Total</b>	<b>653</b>	<b>1,9</b>	<b>7</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2</b>

Le taux moyen de transfert ville hôpital « tvh » des trois dernières années (2012-2014) mesuré à partir des données du CNR du Paludisme (« Diagnostic antérieur en ville positif ») était de 13 %

Le taux moyen de transfert inter hospitalier « thh » des trois dernières années était de 4 %

$$T1 (tvh*Nv+thh*NH) = 281$$

$$N1 (NV+NH) = 4183$$

$$NV = 1266$$

$$NH = 2917$$

$$tvh = 0,13$$

$$thh = 0,04$$

$$DESPAc = 53$$

$$T1' (tvh*Nv'+thh*NH') = 14$$

$$N1' (NV'+NH') = 242$$

$$NV' = 44$$

$$NH' = 198$$

**AnRef\_2013 = 4130**

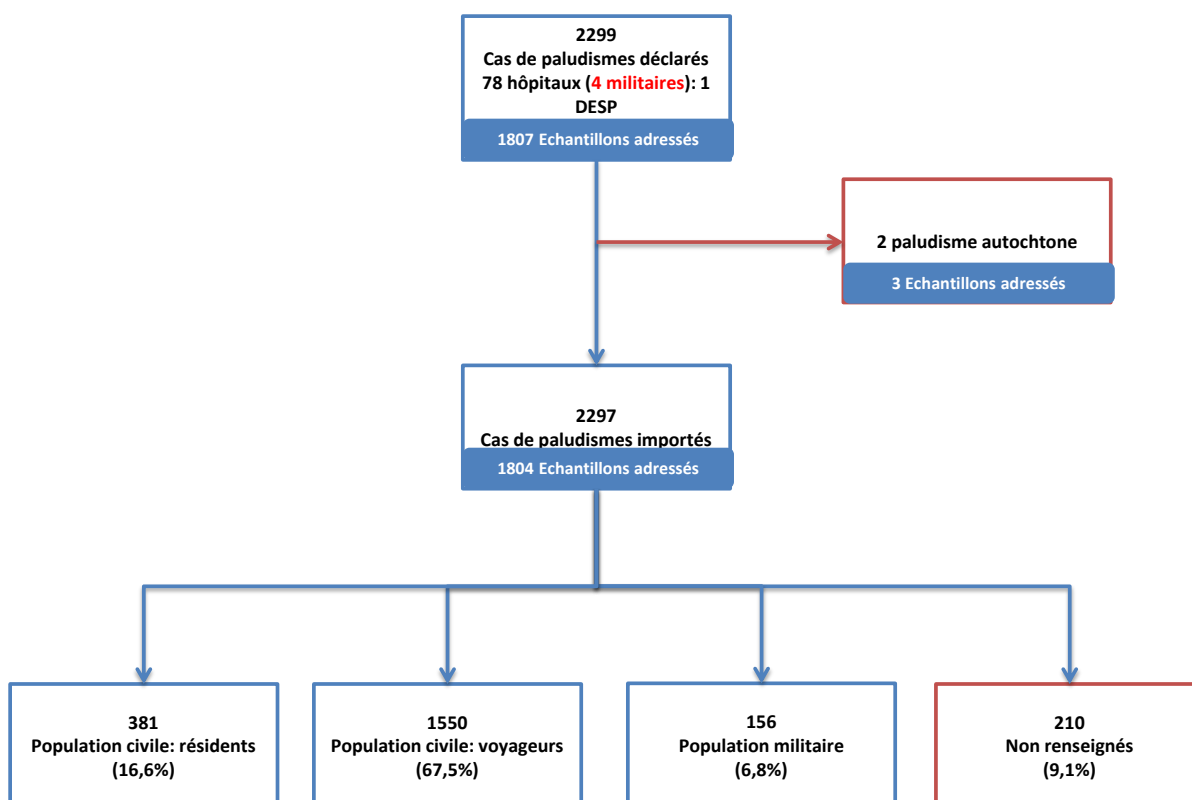
**Cas déclarés au réseau année cible hors DESPac = 2129**

**Représentation du réseau 2013 = 51,55%**

**Total cas année Ref 2013 = 4172**

La variation des valeurs obtenues à partir de l'enquête ANSM/CNR du Paludisme -2014 pour l'année de référence 2013 par rapport aux cas estimés pour l'année 2013 à partir des données 2007 issues de l'enquête AFFSAPS/CNR du Paludisme de 2008 est de 1,7%. Cette variation est tout à fait acceptable si l'on considère une dérive admise de l'ordre de 1 % par an.

Avant analyse des données 2014, les données brutes de la base sont validées par l'identification et le traitement des doublons de déclaration, des doublons de transmission d'échantillons et la correction des incohérences. L'analyse des cas de paludisme d'importation en France, comme à l'habitude, décrit le profil épidémiologique global des cas déclarés, mais distingue également les trois grands profils épidémiologiques habituels, en fonction principalement de l'exposition au risque d'impaludation (durée et type d'exposition et attitude prophylactique). Le premier concerne les civils résidents en zone d'endémie palustre, ce groupe inclus deux populations distinctes i/ les sujets autochtones de la zone d'endémie à l'origine supposée de la transmission palustre, de passage en France métropolitaine pour des raisons touristiques ou professionnelles ii/ les sujets dit « expatriés » nés en France ou plus généralement hors d'une zone endémique pour le paludisme et résidents > 6 mois sur les 12 derniers mois dans la zone d'endémie supposée à l'origine de la transmission palustre. Le second profil épidémiologique regroupe les civils voyageurs en zone d'endémie palustre, là encore il convient de distinguer deux catégories de voyageurs i/ les sujets immigrants, de retour d'un séjour dans leur pays d'origine pour visiter la famille ou les amis et ii/ les sujets non originaires de la zone supposée à l'origine de la contamination et qui ont effectué un séjour (moins de 6 mois dans les 12 derniers mois) pour des raisons touristiques ou professionnelles. Le troisième profil épidémiologique inclut les militaires de retour d'opération dans une zone de transmission du paludisme. Les caractéristiques épidémiologiques et sociodémographiques de la population totale sont décrites et commentées dans ce rapport.



**Figure 2** : Distribution des cas de paludisme déclarés par les correspondants du réseau du CNR du Paludisme en France métropolitaine en fonction des trois grands profils épidémiologiques pour l'année 2014.

Les correspondants du réseau ont transmis au CNR du Paludisme les isolats qui ont permis la confirmation du diagnostic du paludisme et l'analyse des résistances selon le Tableau 3. La population des cas inclus dans l'analyse des résistances est comparable à la population totale des cas pour l'ensemble des variables analysées témoignant d'une absence de biais dans le recrutement des isolats analysés.

**Tableau 3** : Nombre de cas déclarés (dont les rechutes) et nombre d'isolats transmis à l'un des sites d'analyse du CNR du paludisme en 2014 par hôpital correspondant.

Hôpital	Laboratoire	N° de cas déclarés	N° de cas déclarés+ rechutes	N° transmis	% transmission
Aix en Provence	IRBA	11	11	1	9,1
Ales	IRBA	4	4	0	0,0
Amiens	AP-HP	13	14	14	100,0
Angers	AP-HP	32	32	30	93,8
Annecy	IRBA	6	6	2	33,3
Arles	IRBA	1	1	0	0,0
Aulnay sous Bois	AP-HP	65	66	66	100,0
Beaujon	AP-HP	10	10	10	100,0
Besancon	AP-HP	8	8	8	100,0
Bicetre	AP-HP	79	79	72	91,1
Blois	AP-HP	8	8	0	0,0
Bobigny-Avicenne	AP-HP	46	46	46	100,0
Bondy-Jean Verdier	AP-HP	31	32	32	100,0
Bordeaux	IRBA	46	46	41	89,1

Boulogne	AP-HP	15	15	15	100,0
Bourges	AP-HP	1	1	1	100,0
Brest	AP-HP	9	9	9	100,0
CNR	IRBA	66	66	0	0,0
Caen	AP-HP	21	21	0	0,0
Chambery	AP-HP	12	12	12	100,0
Clamart	AP-HP	22	22	2	9,1
Clermont-Ferrand	AP-HP	22	22	21	95,5
Colombes-Louis Mourier	AP-HP	39	39	35	89,7
Corbeil Essonne	AP-HP	41	41	2	4,9
Creil	AP-HP	23	29	29	100,0
Creteil-Henri Mondor	AP-HP	29	29	26	89,7
Dijon	AP-HP	13	13	13	100,0
Dole	AP-HP	1	1	0	0,0
Fontainebleau	AP-HP	6	6	0	0,0
Fréjus St Raphaël	IRBA	3	3	2	66,7
Grenoble	AP-HP	22	22	21	95,5
HIA Brest-Clermont-Tonnerre	AP-HP	9	10	10	100,0
La Roche sur Yon	AP-HP	8	8	1	12,5
Lariboisière	AP-HP	45	45	43	95,6
Laval	AP-HP	3	3	0	0,0
Le Havre	AP-HP	10	10	8	80,0
Le Mans	AP-HP	15	17	17	100,0
Lille	AP-HP	20	20	20	100,0
Limoges	AP-HP	13	13	12	92,3
Longjumeau	AP-HP	20	20	0	0,0
Lyon-Croix-Rousse	AP-HP	1	1	0	0,0
Lyon-Rockefeller-HEH	AP-HM	84	84	1	1,2
Marseille-DESP-Sud	IRBA	53	53	0	0,0
Marseille-HIA Laveran	IRBA	16	16	11	68,8
Marseille-Nord	IRBA	3	3	3	100,0
Marseille-Timone	IRBA	6	6	0	0,0
Meaux	AP-HP	4	4	0	0,0
Montpellier	IRBA	38	38	35	92,1
Mulhouse	AP-HP	11	11	11	100,0
Nancy	AP-HP	13	13	13	100,0
Nantes	AP-HP	62	62	49	79,0
Nice	IRBA	27	27	27	100,0
Nimes	AP-HM	23	23	0	0,0
Niort	AP-HP	2	2	2	100,0
Orleans	AP-HP	35	36	37	102,8
Paris-Bichat	AP-HP	131	131	131	100,0
Paris-Cochin	AP-HP	23	23	22	95,7
Paris-HEGP	AP-HP	32	32	24	75,0
Paris-HIA Begin	AP-HP	51	51	37	72,5



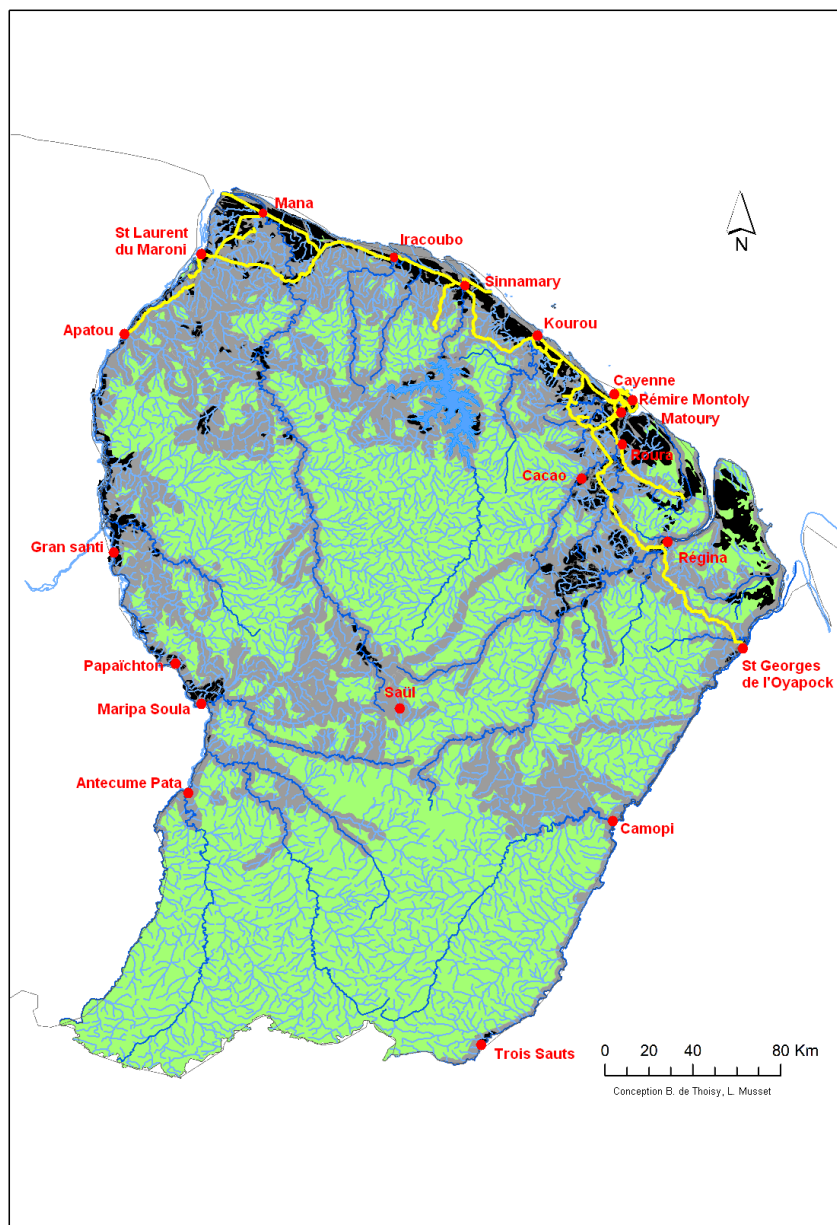
Paris-Inst-Pasteur	AP-HP	19	19	0	0,0
Paris-Necker	BCB	43	45	45	100,0
Paris-Percy	AP-HP	9	10	10	100,0
Paris-Pitie-Salpetriere	AP-HP	87	87	71	81,6
Paris-Robert Debre	AP-HP	51	51	49	96,1
Paris-Saint Louis	AP-HP	39	39	36	92,3
Paris-Saint-Antoine	AP-HP	35	35	34	97,1
Paris-Tenon	AP-HP	57	57	49	86,0
Paris-Trousseau	AP-HP	11	11	5	45,5
Paris/St Joseph	AP-HP	20	20	20	100,0
Poitiers	AP-HP	34	34	32	94,1
Reims	AP-HP	30	31	31	100,0
Rennes	AP-HP	32	32	30	93,8
Rouen	AP-HP	27	27	24	88,9
Saint-Brieuc	AP-HP	11	11	0	0,0
Saint-Denis	AP-HP	105	105	102	97,1
Saint-Etienne	AP-HP	12	12	1	8,3
Saint-Malo	AP-HP	1	1	1	100,0
Strasbourg	AP-HP	48	48	39	81,3
Toulon Naval	IRBA	10	12	12	100,0
Toulouse-Rangueil	IRBA	102	102	96	94,1
Tourcoing	AP-HP	14	14	10	71,4
Tours	AP-HP	26	26	26	100,0
Troyes	AP-HP	4	4	4	100,0
Valenciennes	AP-HP	2	2	2	100,0
Vannes	AP-HP	10	10	0	0,0
Versailles	AP-HP	37	38	38	100,0
Villeneuve St Georges	AP-HP	23	23	16	69,6
Total		2362	2382	1807	

\* CNR : regroupe les déclarations reçues au CNR par des hôpitaux non correspondants habituels du CNR Paludisme

### 3.1.1.2 Pôle Antilles-Guyane

#### *En Guyane*

La Guyane, dont la superficie est équivalente à celle du Portugal, est le département le plus vaste de France. Elle est couverte à plus de 90 % par une forêt tropicale associée à un réseau hydrologique très dense (Figure 3). Ses infrastructures en moyen de communication sont peu développées. Cette situation fait, qu'à l'exception du littoral, un grand nombre de villages situés le long des fleuves ne sont accessibles que par voie fluviale ou aérienne.



**Figure 3.** Réseau de partenaires guyanais – pôle Antilles-Guyane.

En jaune : réseau routier (national et départemental),  
 En vert : forêt primaire,  
 En gris : zones forestières avec impact anthropique,  
 En noir : absence de forêt (savane ; marécage ; zones urbaine,  
 d'orpaillage étendue, agricole....).

Les zones d'endémie permanente du paludisme sont essentiellement localisées dans ces zones difficiles d'accès (Figure 4) et très souvent victimes d'activités d'orpaillage illégal. Quelques foyers de transmission à *P. vivax* sont situés le long du littoral où vivent 87% des 225 000 habitants de la Guyane (source Insee, 2009). L'isolement géographique de certains villages guyanais est tellement important qu'il n'existe aucune structure de santé rapidement accessible permettant la prise en charge des patients. C'est le cas par exemple du village de Saint-Elie ou encore des villages situés sur le Maroni entre Gran-Santi et Apatou (jusqu'à quatre heures de pirogue de la première structure de soin, (Figure 3).

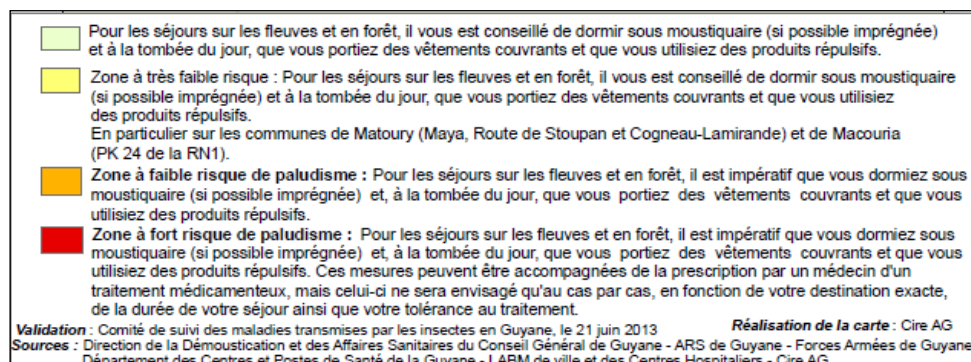
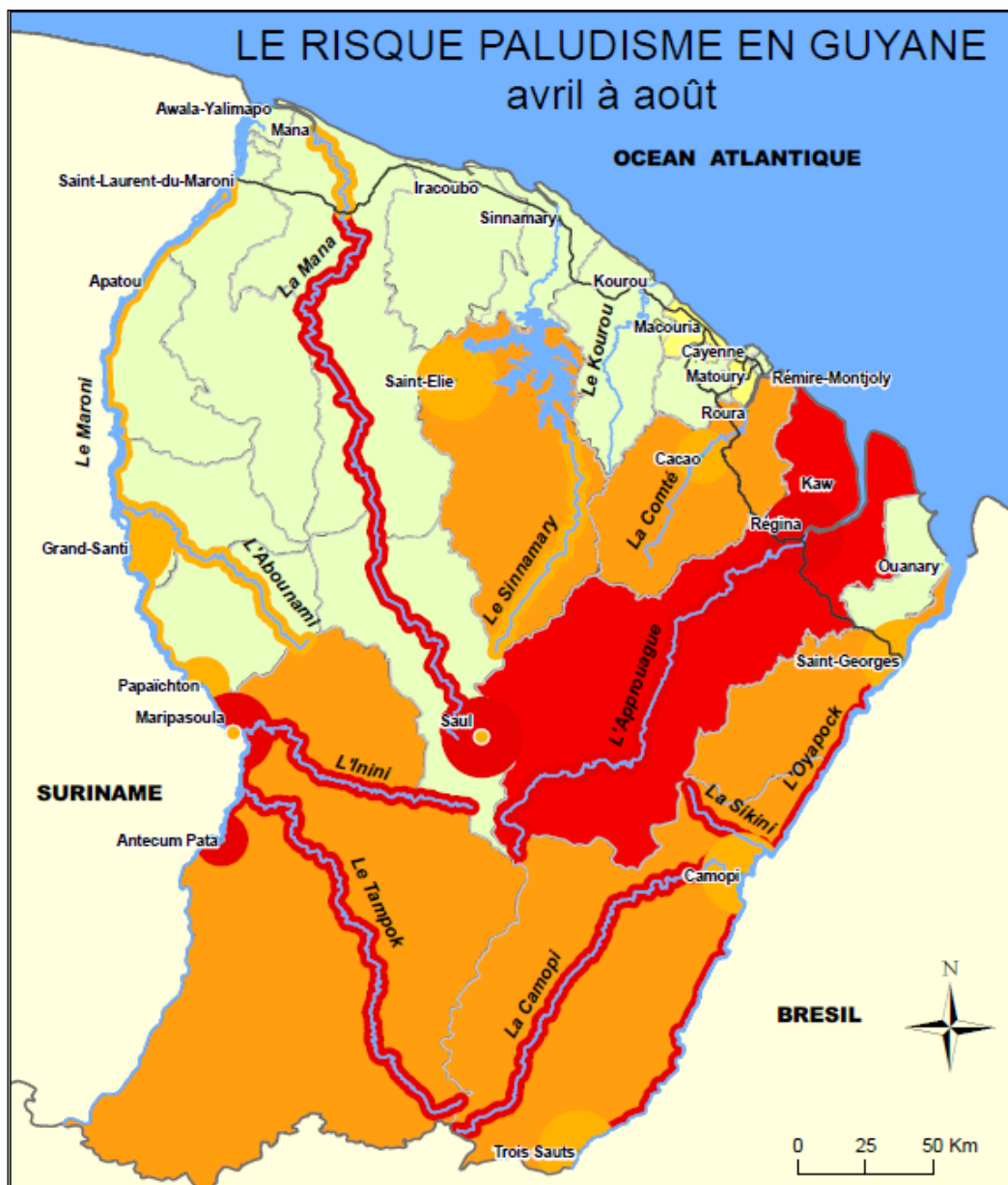


Figure 4. Carte du risque de paludisme en Guyane, janvier 2013.

Le système de santé en Guyane permet la prise en charge et le diagnostic des patients atteints de paludisme sur l'ensemble du territoire. Son organisation est la suivante :

- 22 CDPS situés pour la plupart dans les zones d'endémie palustre. Ils sont rattachés au CHC. Certains n'ont qu'une infirmière comme personnel, ce sont les postes de santé alors que dans les centres de santé exercent un ou des médecins. Tous les CDPS ont la possibilité d'établir un diagnostic de

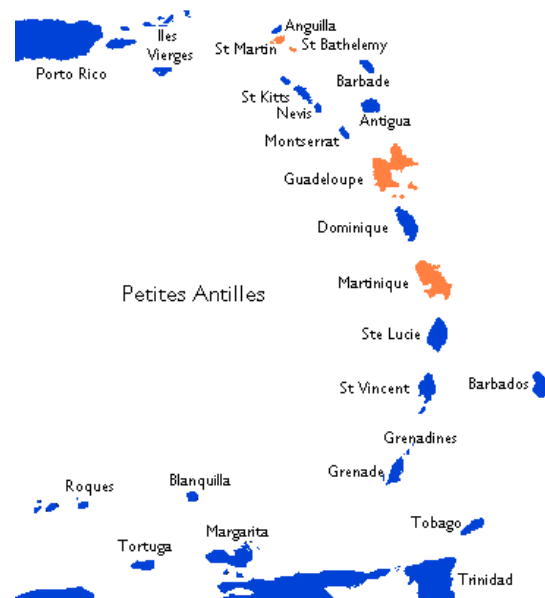
paludisme en utilisant le plus souvent les tests de diagnostic rapide ou pour certains, l'examen microscopique. Parmi eux, 11 diagnostiquent régulièrement des cas de paludisme et font partie des partenaires réguliers du LA-AG ;

- deux hôpitaux publics situés à Cayenne et St Laurent du Maroni ;
- quatre laboratoires de biologie médicale : trois sur l'île de Cayenne, un à Kourou et un à St Laurent du Maroni.

Toutes ces structures de soin et de diagnostic constituent le réseau de partenaires du LA-AG. Le Tableau 4 récapitule les moyens de transport disponibles pour l'acheminement des prélèvements entre le LA-AG et ses partenaires. Pour les LBM de l'île de Cayenne, l'acheminement des échantillons vers le LA-AG se fait à la demande par le vaguemestre de l'IPG.

### **Aux Antilles françaises**

La mission de surveillance des résistances aux Antilles française débute avec cette nouvelle mandature. Des rencontres ont été organisées avec les partenaires hospitaliers de Fort-de-France et de Pointe-à-Pitre en septembre 2012 et courant 2013 afin de définir leurs modalités de participation. Les infectiologues, parasitologues ou microbiologistes ont donné leur accord pour participer à cette surveillance. Les modalités initialement prévues étaient les suivantes : saisie des données épidémiologiques dans la base Voozoo du CNR avec génération automatique de la fiche de déclaration obligatoire et envoi au LA-AG du prélèvement pour les partenaires martiniquais et envoi du prélèvement uniquement pour les partenaires guadeloupéens qui ne veulent pas risquer de compléter la base au détriment du formulaire à déclaration obligatoire. Cependant, la génération automatique de la fiche de DO est compliquée à mettre en place. Il a donc été décidé en accord avec l'InVS que le CHU de Fort de France saisisse dans la base Voozoo du CNR et déclare simultanément le cas à la Cire AG. Ce mode de fonctionnement devrait être débuté prochainement.



**Figure 5.** Réseau des partenaires antillais :  
 Martinique – Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Fort de France,  
 Guadeloupe – CHU de Pointe à Pitre.

**Tableau 4.** Partenaires du LA-AG: localisation, fréquence des liaisons avec Cayenne et niveau de participation à la surveillance des résistances plasmodiales en 2014.

	Partenaires	Commune	Liaison (fréquences)	Type d'échantillons collectés	Nombre d'accès déclarés (Cire AG)	Isolats transmis au LA-AG	
						Nb	%
Maroni	CH	St Laurent du Maroni	Routière (quotidienne)	Tube EDTA	31	10	32%
	LBM Ouest Biosanté		Routière (sur demande)	Tube EDTA	0	0	-
	Centre de santé	Apatou	Pirogue + route (hebdomadaire)	Tube EDTA	0	0	-
	Centre de santé	Gran-Santi	Aérienne (4x/semaine)	Tube EDTA	3	1	33%
	Centre de santé	Papaïchton	Pirogue + avion (quotidienne)	Tube EDTA	16	2	13%
	Centre de santé	Maripa Soula	Aérienne (quotidienne)	Tube EDTA	114	49	43%
	Poste de santé	Antécume Pata	Pirogue + avion (occasionnelle)	Buvar	3	0	0%
	Poste de santé	Talhuen	Pirogue + avion (occasionnelle)	A mettre en place	15	0	0%
Littoral	CH	Cayenne	Routière (quotidienne)	Tube EDTA	96	96	100%
	LBM IPG		Sur place	Tube EDTA	0	4	400%*
	LBM LabAzur	Cayenne Matoury	Routière (sur demande)	Tube EDTA	7	0	0%
	LBM de Kourou	Kourou	Routière (sur demande)	Tube EDTA	35	53	151%*
	Service de santé des Armées	Cayenne	Routière (sur demande)	Tube EDTA Buvar	18	0	0%*
Intérieur	Centre de santé	Régina	Routière (hebdomadaire)	Tube EDTA	17	0	0%
	Centre de santé	Cacao	Routière (hebdomadaire)	Tube EDTA	9	0	0%
	Poste de santé	Saül	Aérienne (quotidienne)	Tube EDTA	1	0	0%
Oyapock	Centres de santé	St Georges de l'Oyapock Ouanary	Routière (bi- hebdomadaire)	Tube EDTA Buvar	66	4	6%
	Centre de santé	Camopi	Pirogue + avion (occasionnelle)	Tube EDTA Buvar	10	0	0%
	Poste de santé	Trois Sauts	Pirogue + avion (occasionnelle)	Buvar	5	0	0%
<b>Total</b>					<b>446</b>	<b>219</b>	<b>49%</b>

CH : Centre Hospitalier, LBM : Laboratoire de Biologie Médicale, LA-AG : Centre National de Référence de la Chimiorésistance du Paludisme, IPG : Institut Pasteur de la Guyane, ARS : Direction Sanitaire et du Développement Social, Cire-AG : Cellule InterRégionale d'Epidémiologie Antilles-Guyane.

\*Certains pourcentages sont supérieurs à 100%. Ceci concerne essentiellement des patients diagnostiqués deux fois et pour lesquels le lieu de diagnostic (pris en compte une seule fois) a été comptabilisé différemment par la CIRE et par le LA-AG. Les autres cas concernent les militaires qui sont rarement étiquetés comme service de santé des armées par LA-AG mais plutôt systématiquement par le laboratoire qui envoie les prélèvements, le plus souvent le LBM de Kourou et le LBM de l'IPG.

### Animation du réseau des partenaires

L'envoi des échantillons vers le LA-AG repose sur le volontariat du personnel soignant ou des biologistes des différents laboratoires et CDPS. Pour animer ce réseau, des missions sont organisées tout au long de l'année tout particulièrement dans les CDPS où la rotation des médecins est importante (en moyenne tous les 6 mois) ce qui rend difficile la pérennisation de la participation à la surveillance. Les missions de sensibilisation effectuées en 2014 figurent dans le Tableau 5.

**Tableau 5.** Missions de sensibilisation du LA-AG auprès des partenaires réalisées en 2014.

Date	Commune	Partenaire	Durée	Intervenant
Mai	Cayenne	Centre Hospitalier	½ journée	Lise Musset
Juin	Maripa Soula	CDPS	1 journée	Lise Musset
Octobre	Maripa Soula	CDPS	1 journée	Lise Musset
Novembre	Cayenne	Centre Hospitalier	1/2 journée	Lise Musset
Décembre	Cayenne	Conseil de pôle - CHC	1 journée	Stéphane Pelleau

CDPS : Centre Délocalisé de Prévention et de Soins ; LA-AG : Centre national de référence du paludisme, Laboratoire Associé pour la région Antilles-Guyane.

2014 a été marquée par la mise en place d'un système de recueil de données commun à la Cire AG, au CNR et au Laboratoire Hospitalo-Universitaire de Parasitologie Mycologie (LHUPM) de l'Hôpital de Cayenne dont dépendent les CDPS. Ce recueil coordonné ne sollicite les partenaires qu'une seule fois. Ainsi chaque organisme reçoit les renseignements dont il a besoin à partir d'une tube et d'une fiche de renseignement unique. Le circuit est le suivant : le CDPS envoie un tube et une feuille au LHUPM qui réalise à son niveau un contrôle du diagnostic précédemment fait par TDR grâce à un frottis mince et une goutte épaisse. Le LHUPM saisit également les données nécessaires à la Cire pour sa surveillance à visée d'alerte. Le tube et la feuille sont alors transmis au CNR qui réalise les analyses biologiques requises en fonction du dossier en question. Cette procédure a été mise en place en septembre à Maripa Soula et porté ses fruits puisque nous avons reçu 50% des échantillons déclarés par ce CDPS alors que l'année dernière le niveau d'exhaustivité dans ce centre n'était que de 17%. Cette procédure sera étendue en 2015 aux CDPS de l'Oyapock.

Pour la première fois en 2014, nous avons participé au conseil de pôle organisé début décembre par la coordination des CDPS. Cette réunion est l'occasion pour l'Hôpital de Cayenne de rencontrer en un même lieu tous ses partenaires des CDPS et de faire le point sur les différents sujets, problèmes, projets en cours. Ainsi notre laboratoire a pu présenter ses activités et répondre à des questions d'ordre pratique ou général des partenaires vis-à-vis de la surveillance du paludisme en général.

Chaque semestre, les internes du LHUPM en charge de l'aiguillage des prélèvements jusqu'au LA-AG sont sensibilisés à l'intérêt de la surveillance des résistances et au rôle dans le processus de surveillance.

En plus de tout cela, des contacts téléphoniques réguliers ont lieu avec les partenaires.

Cette stratégie de sensibilisation a permis d'augmenter le nombre d'échantillons reçus au LA-AG de façon constante depuis 2008. Pour l'année à venir, nos efforts de sensibilisation se focaliseront sur le CDPS de Talhuen, de Régina, et de St Georges de l'Oyapock ainsi que sur le Centre Hospitalier de St Laurent.

#### 3.1.2 Epidémiologie du paludisme d'importation – Pôle métropole

En 2014, **2 299** cas de paludisme notifiés par les correspondants du réseau, dont **2 cas autochtones**, ont été retenus après élimination des doublons et nettoyage de la base. Les 2 cas déclarés comme autochtones à l'ARS de référence sont après analyse des cas cryptiques potentiellement des accès tardifs ou des cas d'importation non avoués (cf 4.2.1), ils sont dans ce rapport analysés avec les cas d'importation. Les cas 2014 sont déclarés par **80** centres hospitaliers civils, **4** centres hospitaliers militaires et par le Centre d'épidémiologie et de santé publique des Armées (CESPA).

L'analyse des **2 299** cas d'importation et autochtones figure ci-dessous (Figure 6). La région Ile de France demeure au 1<sup>er</sup> rang avec **53,2%** des cas déclarés.

### 3.1.2.1 Estimation du nombre de cas totaux et tendances évolutives

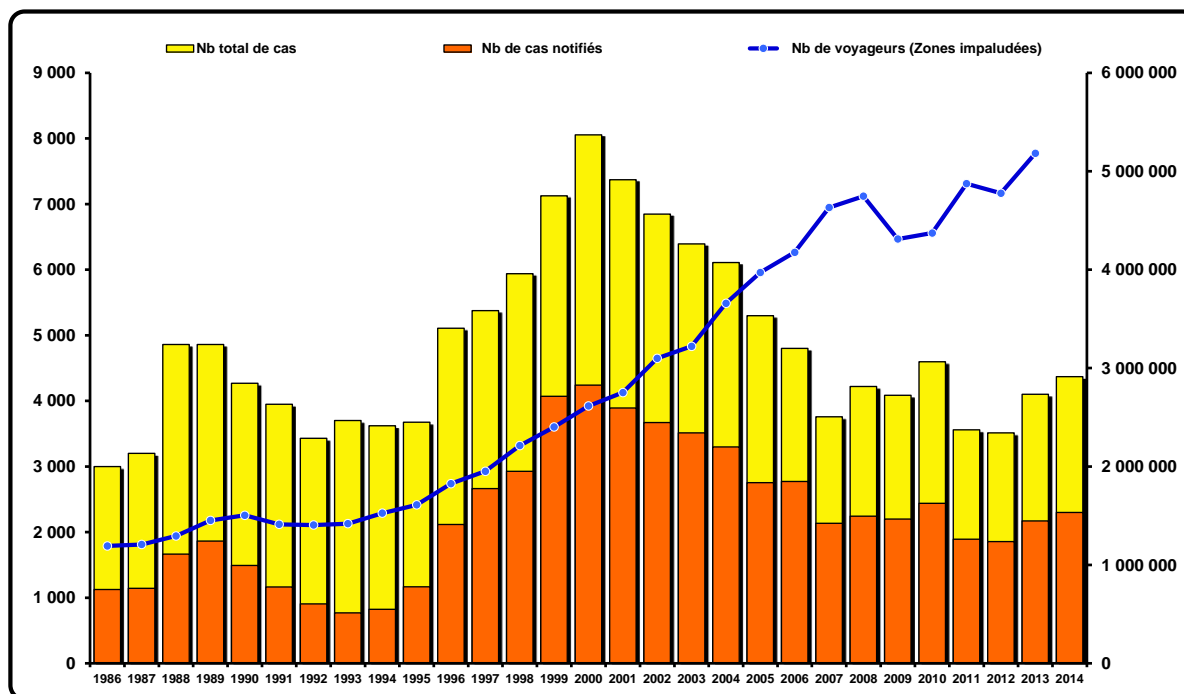
Entre 2013 et 2014, le nombre de cas déclarés au CNR du paludisme par les correspondants du réseau, n=2 299 a augmenté de 5,9 %, ce qui représente à correspondants constants hors CESPAC un chiffre de 2 197 cas pour une hausse de 8,5% (Tableau 6). En se basant sur les chiffres obtenus en 2013 lors de l'enquête nationale ANSM/CNR du Paludisme, le nombre de cas estimés est de 4370 pour l'année 2014, soit une augmentation de 4,8 % par rapport à 2013. Après une stabilisation des cas en 2011 et 2012 il est ainsi constaté une forte augmentation des cas en 2013 qui se maintient en 2014 (Tableau 6 et Figure 6).

**Tableau 6** : Cas déclarés et cas estimés de paludisme en France métropolitaine, tendances évolutives 2010 -2014

	2010	2011	2012	2013	2014
Nb de cas déclarés (NCD)	2439	1891	1856	2171	2299
NCD, variation / année antérieure en %	10,9	-22,5	-1,9	17,0	5,9
NCD hors CESPAC	2394	1844	1833	2129	2246
NCD hors CESPAC, variation / année antérieure en %	12,1	-23,0	-0,6	16,1	5,5
NCD hors CESPAC, Représentativité du réseau	52,6	51,9	51,5	51,8	52,0
NCD hors CESPAC à correspondants constants	2179	1742	1771	2025	2197
NCD hors CESPAC à correspondants constants variation / année antérieure	10,9	-20,1	1,7	14,3	8,5
Nombre total de cas estimés	4596	3600	3582	4100	4370
Nombre total de cas estimés variation / année antérieure	11,2	-21,7	-0,5	14,5	4,8
Cas observés corrigés (enquête exhaustive de 2014 sur les données 2013)				4170	
Cas observés corrigés variation / total cas estimés en %				1,7	

CESPA = Centre d'épidémiologie et de santé publique des Armées

\*Chiffres obtenus à partir de l'enquête ANSM/CNR du Paludisme de 2014 pour l'année 2013



**Figure 6** : Evolution du paludisme d'importation, cas déclarés, cas estimés et nombre de voyageurs vers les zones impaludées, France métropolitaine 1996 à 2014.

Les chiffres des voyageurs en 2014 fournis par la DGAC n'étant pas disponibles au moment de l'écriture de ce rapport, les comparaisons sont celles des chiffres de 2013 versus 2012. Le nombre de voyageurs, 5 182 162, vers les zones endémiques pour le paludisme a augmenté de +8,5 % en 2013 par rapport à 2012 : cette augmentation significative de voyageurs est vraisemblablement l'une des explications de la tendance observée sur le nombre de cas de paludisme pour l'année 2013. Elle touche essentiellement les voyageurs à destination de l'Afrique de l'Ouest, de l'Afrique Australe, de l'Afrique du Centre et de



l'Amérique du Sud dont les proportions sont en augmentation de 11%, 7%,4% et 6,8% respectivement, et à destination de la zone Asie-Pacifique (+9,5%) alors que le nombre de voyageurs vers les Iles de l'Océan Indien est en diminution (-10%) (Figure 7).

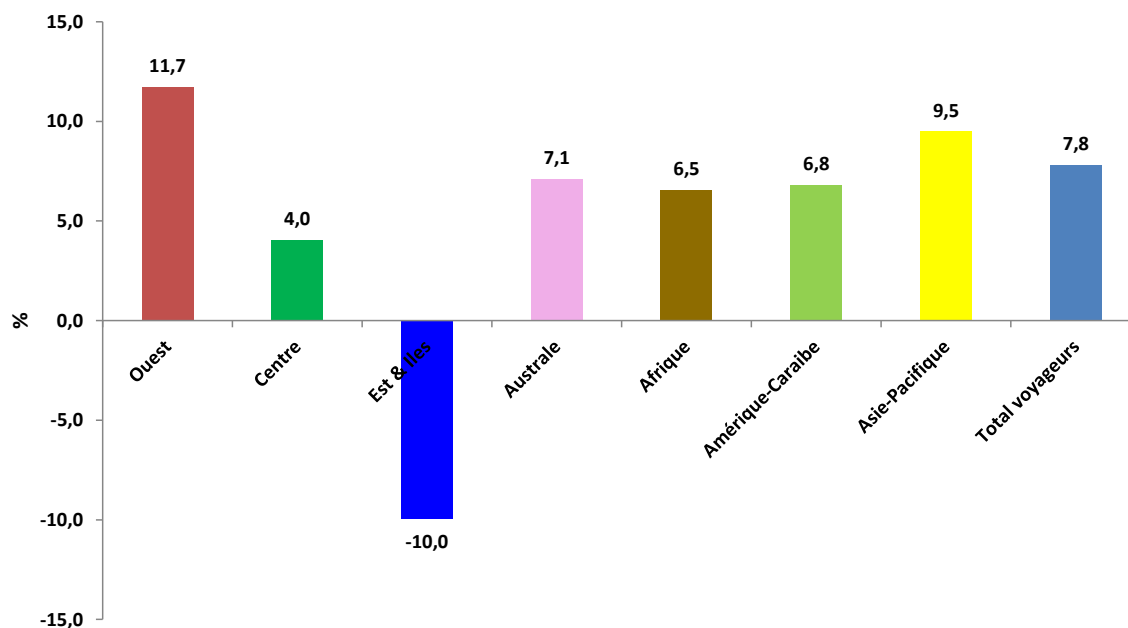


Figure 7 : Variation des voyageurs par régions et continents de séjour entre 2012 et 2013.

Pour l'année 2014, la région Ile de France est comme à l'habitude la première région pour le nombre de cas déclarés avec toujours plus de 50 % des cas (53,2 % des cas totaux) (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Avec 77 cas déclarés en 2014 (3,3 % des cas totaux), la région PACA a un nombre de cas en diminution significative (-29 % par rapport à 2013), en lien avec la diminution très significative des cas d'importation des Comores. La région Midi-Pyrénées avec 102 cas déclarés cette année (4,4% des cas totaux) est en légère baisse, -5,6% par rapport à 2013 (108 cas). Deux régions, Pays de la Loire (121 en 2013 et 128 en 2014) et Rhône Alpes (118 en 2013 et 136 en 2014) ont une augmentation respective de 5% et 15% par rapport au nombre de cas déclarés en 2013. Les autres régions ont des nombres de cas qui restent faibles (<60) avec des variations parfois importantes mais non interprétables (Figure 9).

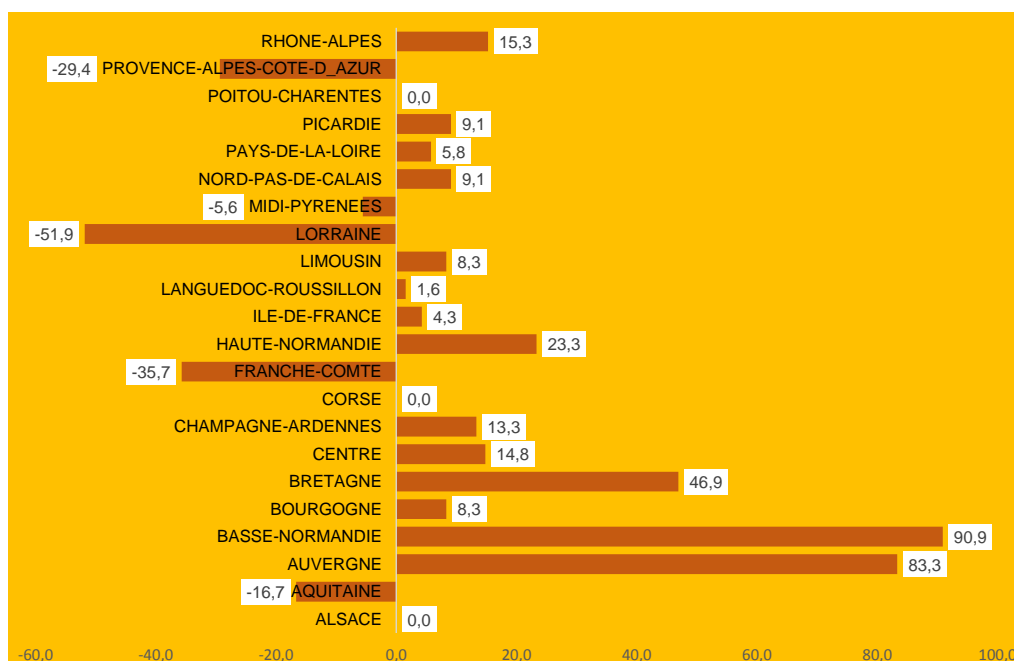
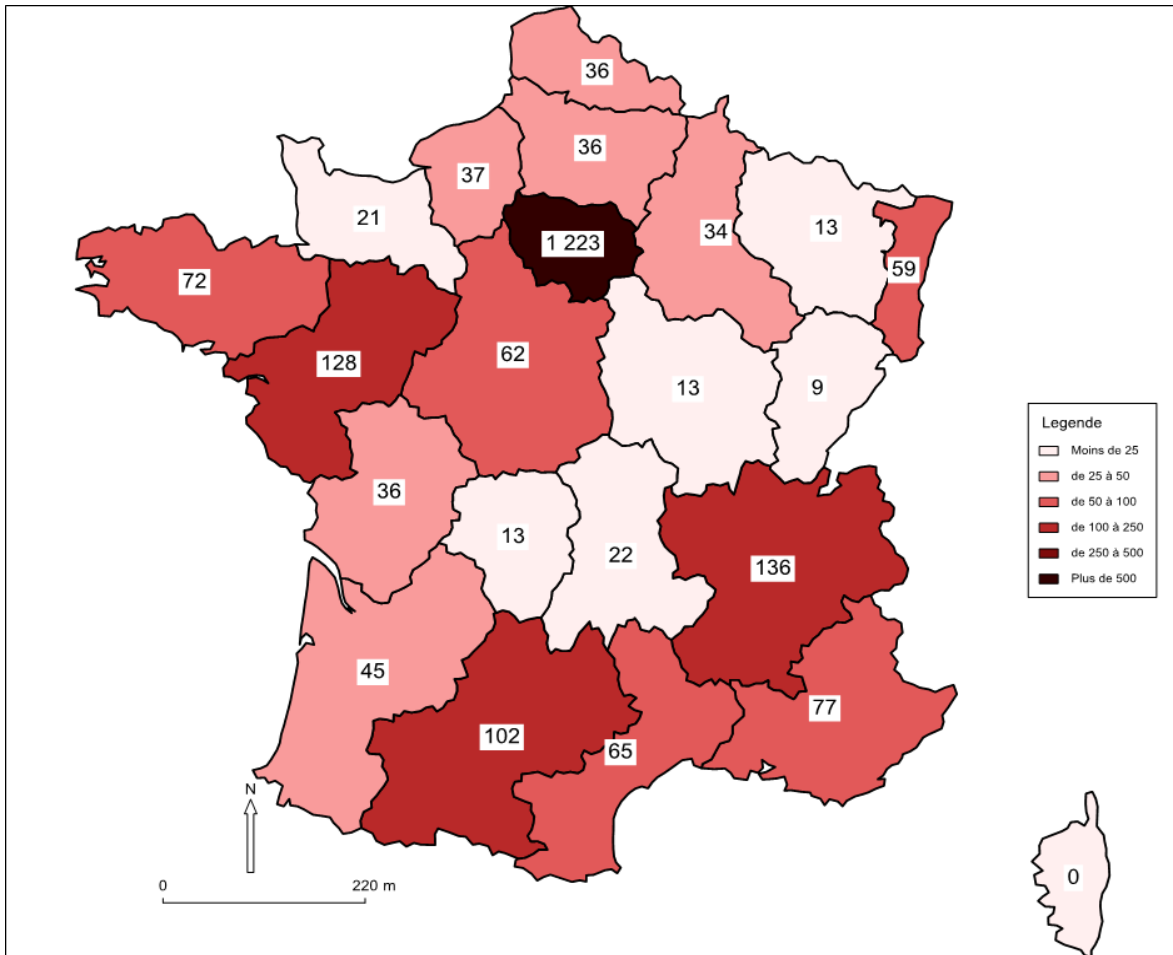


Figure 8 : Variation par région des cas de paludisme déclarés en France métropolitaine entre 2013 et 2014

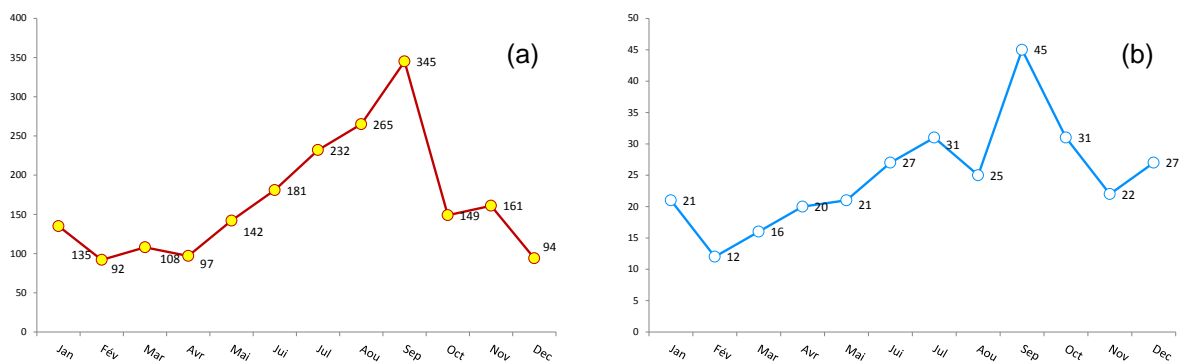




**Figure 9 :** Répartition régionale des cas de paludisme déclarés par le réseau des correspondants du CNR du Paludisme, France métropolitaine, année 2014, n = 2 299.

### Distribution mensuelle des cas

La répartition des cas en fonction du mois de diagnostic est illustrée par la Figure 10 : on note comme à l'habitude un pic de fréquence des cas entre juillet et octobre et un deuxième plus modéré en janvier pour toutes les espèces plasmodiales. La répartition au cours de l'année montre, pour les espèces autres que *P. falciparum* (b), une proportion de cas plus importante les mois « creux » de février à mars et de octobre à décembre que pour l'espèce *P. falciparum* (a). Ceci s'explique par la période d'incubation plus longue que pour *P. falciparum* et surtout par la capacité pour les espèces *P. vivax* et *P. ovale* de générer des accès dits de reviviscence par l'intermédiaire des hypnozoïtes



**Figure 10 :** Distribution mensuelle des cas de paludisme déclarés par le réseau des correspondants du CNR du Paludisme, France métropolitaine, année 2014, n = 2246. (a) Espèce *P. falciparum* (b) Espèces autres que *P. falciparum*

### Age, sexe et origine des cas déclarés

L'âge est renseigné dans 100 % des cas. La répartition des cas en fonction des tranches d'âge est détaillée dans le Tableau 7 et la répartition des hommes et des femmes en fonction des tranches d'âge dans le Tableau 8. Répartition des hommes et des femmes en fonction des tranches d'âge pour la population totale, France métropolitaine, année 2014, n = 2 299

Age	Hommes		Femmes		Sex-ratio
	N	%	N	%	
≤ 2 ans	19	1.3	25	2.9	0.8
3 – 14 ans	118	8.2	118	13.8	1.0
15 – 59 ans	1163	80.5	660	77.4	1.8
≥ 60 ans	144	10.0	50	5.9	2.9
<b>Total âge</b>	<b>1444</b>	<b>100</b>	<b>853</b>	<b>100</b>	<b>1.7</b>

. Les cas ont entre 0,0 mois et 85,6 ans. L'âge médian est de 36,1 ans (IQ25-75 =24,1-47,4) ; moyenne : 35,7 (ET : 16,8), en légère baisse par rapport à 2013.

La proportion des nourrissons dans la population totale est de 1,9 % (44/2 297) avec un âge médian de 1,7 ans (IQ25-75 =0,8-2,5). La proportion d'enfants de 3-14 ans est de 10,3 % (236/2 297) avec un âge médian de 9,4 ans (IQ25-75 =6,2-12,3) celle des adultes de 15-59 ans de 79,4 % (1 823/2 297) avec un âge médian de 36,7 ans (IQ25-75 =27,2-45,3) et celle des adultes ≥60 ans de 8,5 % (194/2 297) avec un âge médian de 65,1 ans (IQ25-75 =62,2-69,6). Pas de changement significatif par rapport à 2013.

**Tableau 7.** Répartition des cas en fonction des tranches d'âge pour la population totale, France métropolitaine, année 2014,

	N	(%)	Moyenne	SD	Médiane	P25	P75
≤ 2 ans	44	1.9	1,6	0,9	1,7	0,8	2,5
3 – 14 ans	236	10.3	9,3	3,5	9,4	6,2	12,3
15 – 59 ans	1823	79.4	36,7	11,5	36,7	27,2	45,3
≥ 60 ans	194	8.5	66,5	5,3	65,1	62,2	69,6
<b>Total</b>	<b>2297</b>	<b>100</b>	<b>35,7</b>	<b>16,8</b>	<b>36,1</b>	<b>24,1</b>	<b>47,4</b>

Le sex-ratio<sub>H/F</sub> global de l'ensemble de la population d'étude en 2014 est de 1,7 contre 1,8 en 2013, cette différence n'est pas significative. En fonction des tranches d'âge, on observe une augmentation significative du sex-ratio avec l'âge (p<0,001). Le Chi2 global, qui rend compte d'une différence de répartition des hommes et des femmes entre les différents groupes est très significatif (p<0,001).

**Tableau 8.** Répartition des hommes et des femmes en fonction des tranches d'âge pour la population totale, France métropolitaine, année 2014, n = 2 299

Age	Hommes		Femmes		Sex-ratio
	N	%	N	%	
≤ 2 ans	19	1.3	25	2.9	0.8
3 – 14 ans	118	8.2	118	13.8	1.0
15 – 59 ans	1163	80.5	660	77.4	1.8
≥ 60 ans	144	10.0	50	5.9	2.9
<b>Total âge</b>	<b>1444</b>	<b>100</b>	<b>853</b>	<b>100</b>	<b>1.7</b>

L'ethnie, qui constitue un meilleur reflet du risque d'exposition que la nationalité, est renseignée pour 2067 cas (89,9%). La répartition des hommes et des femmes en fonction de l'origine ethnique est détaillée dans le Tableau 9.

Dans la population totale, on observe une proportion de 76,1 % d'Africains, en diminution de 4 points en pourcentage par rapport à 2013, pour environ 21,2% de caucasiens, en augmentation de 3,4 points. L'augmentation constatée cette année chez les caucasiens par rapport à 2013 est attribuable en partie à l'augmentation importante des cas chez les militaires (Tableau 10, Figure 11, Figure 12).

La distribution du sex-ratio H/F en fonction de l'ethnie (Tableau 9) indique un chiffre élevé de 3,5 pour les caucasiens versus 1,3 pour les Africains. Le type de séjour, plus long et plus familial des sujets africains explique le sex-ratio plus proche de 1 dans cette population. Le type de voyage, touristique ou plus souvent professionnel à séjour de moins de 15 jours ainsi que l'influence du groupe des militaires expliquent le sexe ratio Hommes/Femmes bien plus élevé dans cette population. Le sexe ratio des groupes "Asiatiques" et "Autres" peuvent varier fortement d'une année sur l'autre, 6,0 et 4,4 en 2013 respectivement, en raison essentiellement de la plus grande disparité au sein des groupes et du faible effectif annuel.

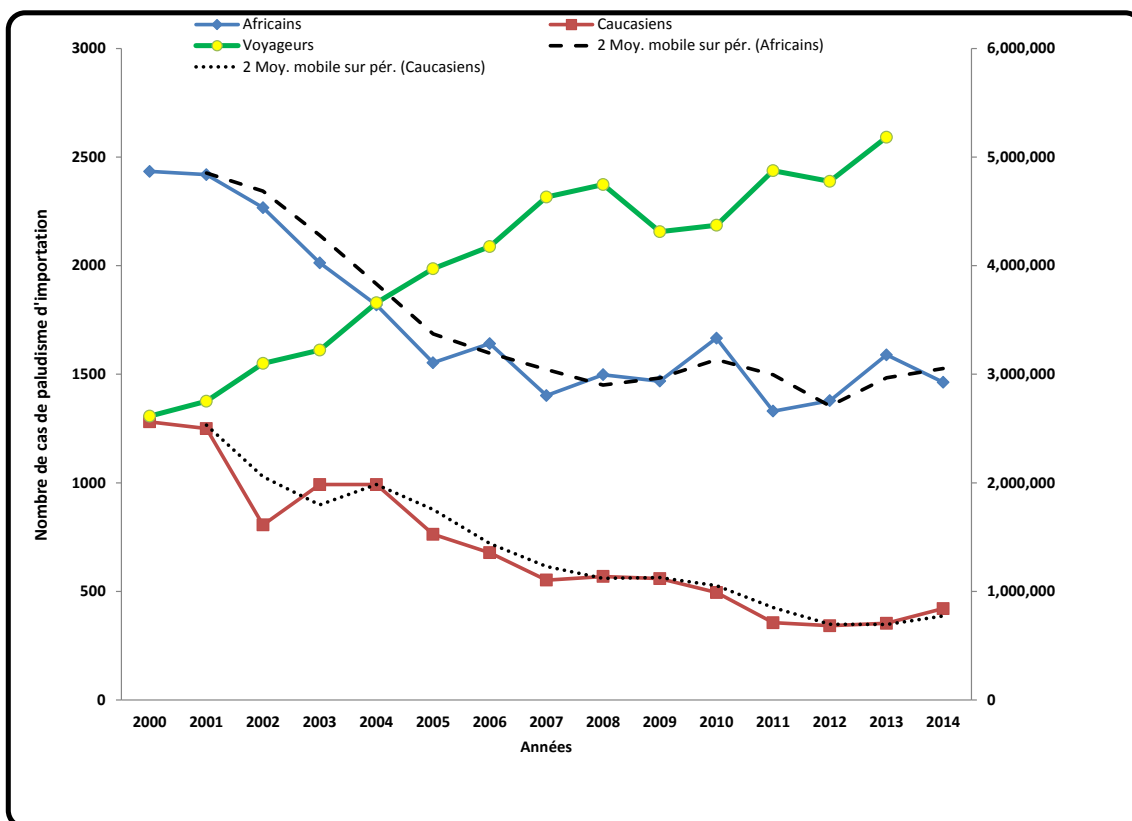
**Tableau 9** : Répartition des hommes et des femmes en fonction de l'origine ethnique pour la population totale en 2014 (n=2067)

Origine	Hommes		Femmes		Sex-ratio
	N	%	N	%	
Africain	892	70.2	682	85.8	1.3
Caucasien	341	26.8	97	12.2	3.5
Asiatique	14	1.1	4	0.5	3.5
Autres	25	2.0	12	1.5	2.1
<b>Total origine</b>	<b>1272</b>	<b>100</b>	<b>795</b>	<b>100</b>	<b>1.6</b>

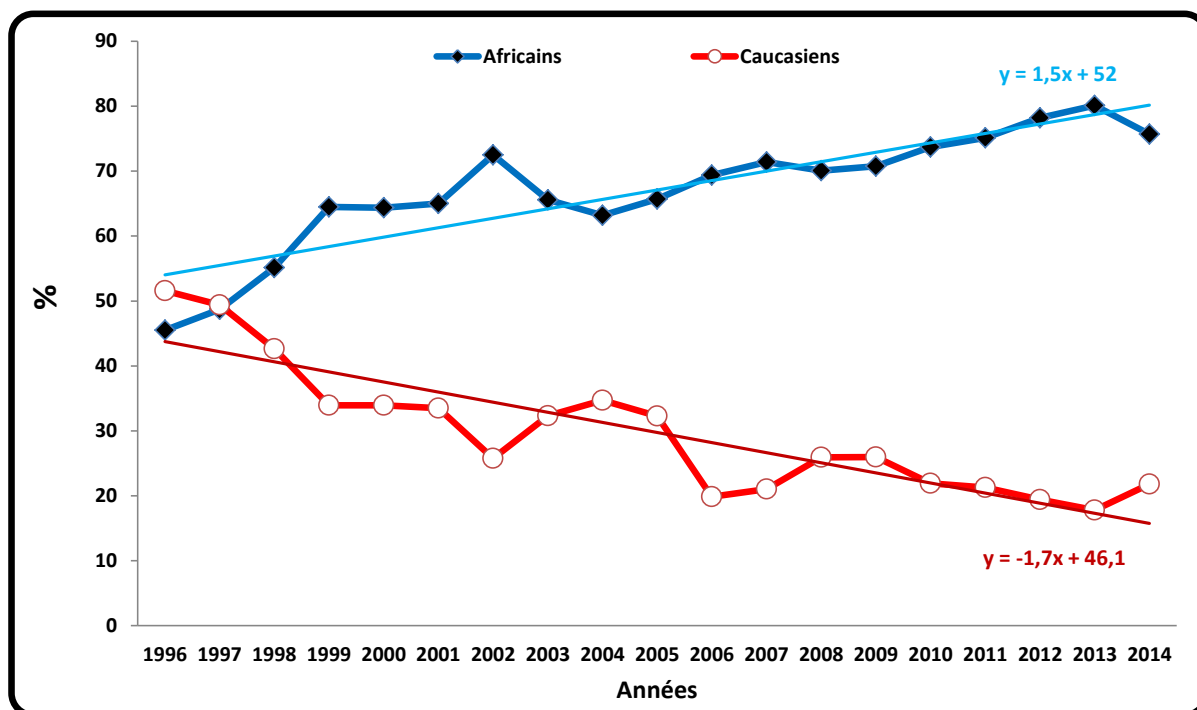
**Tableau 10** : Répartition des cas en fonction du profil épidémiologique et de l'origine ethnique en 2014

Ethnie	Total des cas		Civils voyageurs		Civils résidents		Militaires	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Caucasien	421	21,8	265	18,1	72	19,6	84	80,0
Originaires de ZEP°								
<i>Africain</i>	1463	75,7	1170	80,1	286	77,7	7	6,7
<i>Asiatique</i>	15	0,8	10	0,7	4	1,1	1	1,0
<i>Autres</i>	35	1,8	16	1,1	6	1,6	13	12,4
<b>Total Ethnie</b>	<b>1934</b>	<b>100</b>	<b>1570</b>	<b>100</b>	<b>368</b>	<b>100</b>	<b>105</b>	<b>100</b>

ZEP : zone d'endémie palustre



**Figure 11** : Evolution annuelle du nombre de voyageurs en zone d'endémie et des cas de paludisme d'importation des sujets d'origine africaine et caucasienne entre 1996 et 2014.



**Figure 12** : Evolution annuelle des proportions de paludisme d'importation des sujets d'origine africaine et caucasienne entre 1996 et 2014

**Tableau 11** : Répartition des cas en fonction du profil épidémiologique et du pays de résidence en 2014, n=2085

Résidence	Total des cas		Civils voyageurs		Civils résidents		Militaires	
	N	%	N	%	N	%	N	%
France	1,647	79.0	1,492	96.4	4	1.1	151	96.8
ZEP°	408	19.6	32	2.1	375	98.4	1	0.6
HZEP°°hors France	30	1.4	24	1.6	2	0.5	4	2.6
<b>Total Résidence</b>	<b>2,085</b>	<b>100</b>	<b>1,548</b>	<b>100</b>	<b>381</b>	<b>100</b>	<b>156</b>	<b>100</b>

ZEP : zone d'endémie palustre ; HZEP : hors zone d'endémie palustre

### **Lieu présumé de contamination**

Les régions présumées de contamination sont rapportées dans le Tableau 12 et le Tableau 13. Pour les cas acquis sur le continent africain, qui regroupent les principaux pays de contamination, la tendance à l'augmentation des cas en provenance de la Côte d'Ivoire (n=638, +22 %) et du Cameroun (n=402, +14 %) par rapport à 2013 se poursuit. Les cas en provenance du Mali sont en diminution modérée de 10% essentiellement du fait d'une diminution des cas chez les militaires (10 cas en 2014 versus 39 cas en 2013). Les cas en provenance de République centrafricaine augmentent cette année de 69 % en lien avec une très forte augmentation des cas chez les militaires (+395 %), (104 cas en 2014 *versus* 21 en 2013). Globalement, les cas de paludisme d'importation chez les militaires ont augmenté de manière très importante +49 % par rapport à 2013, essentiellement pour les individus au retour de République Centrafricaine.

Il n'y a en 2014 qu'un seul cas de paludisme d'importation au retour des Comores contre 53 cas rapportés en 2013 (45 en 2012). Le Tableau 14 rend compte de la distribution des cas en provenance des Comores pour les 12 centres correspondants en lien géographique avec une population originaire des Comores. Un programme national de traitement de masse de la population, la diminution des anophèles, la diminution des précipitations et les traitements plus efficaces à base de dérivés de l'artémisinine sont les pistes évoquées pour expliquer ce phénomène remarquable survenu dans les îles de l'archipel des Comores. Aucun cas en provenance de l'île de Mayotte n'a été rapporté par nos correspondants. La surveillance des cas importés en France métropolitaine de l'archipel des Comores (Mayotte incluse) en France métropolitaine comme celle des cas déclarés par la CIRE Océan Indien dans l'île de Mayotte est donc une priorité pour le contrôle du paludisme dans cette partie de l'océan Indien. L'analyse des cas collectés en 2013 (26 cas) et 2014 (4 cas) sur l'île de Mayotte fait l'objet d'un paragraphe spécifique.

**Tableau 12.** Répartition des cas en fonction du profil épidémiologique et de la région d'endémie visitée en 2014, France métropolitaine, n = 2087

		Total cas		Civils voyageurs		Civils résidents		Militaires	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Am. Latine Caraïbes		18	0,9	5	0,3	2	0,5	11	7,1
Am. Centrale									
<b>Sous-total Amérique</b>		<b>18</b>	<b>0,9</b>	<b>5</b>	<b>0,3</b>	<b>2</b>	<b>0,5</b>	<b>11</b>	<b>7,1</b>
Afrique	Ouest	1216	58,2	994	64,1	195	51,1	27	17,3
	Centrale	768	36,8	496	32,0	155	40,6	117	75,0
	Australe	3	0,1	3	0,2	0	0,0	0	0,0
	Est	26	1,3	16	1,0	9	2,4	1	0,6
	Nord	4	0,2	1	0,1	3	0,8	0	0,0
	SAP°	1	0,1	0	0,0	1	0,3	0	0,0
<b>Sous-total Afrique</b>		<b>2018</b>	<b>96.7</b>	<b>1510</b>	<b>97.4</b>	<b>363</b>	<b>95.2</b>	<b>145</b>	<b>92.9</b>
Asie	Centrale								
	Sud-Est	7	0,3	6	0,4	1	0,3	0	0,0
	Sud	24	1,2	21	1,4	3	0,8	0	0,0
	Est								
<b>Sous-total Asie</b>		<b>31</b>	<b>1,5</b>	<b>27</b>	<b>1,8</b>	<b>4</b>	<b>0,11</b>	<b>0</b>	<b>0,0</b>
Les Antilles		3	0,1	3	0,2	0	0,0	0	0,0
Pacifique		1	0,1	1	0,1	0	0,0	0	0,0
Non renseigné		16	0,8	4	0,3	12	3,1	0	0,0
<b>Total</b>		<b>2087</b>	<b>100</b>	<b>1550</b>	<b>100</b>	<b>382</b>	<b>100</b>	<b>156</b>	<b>100</b>

° SAP : sans autre précision

\*origine de la contamination du cas non vérifiée

Dans le Tableau 13, les 17 pays sur les 52 pays à l'origine des cas, représentant 94,0 % du total des cas déclarés sont présentés. Seulement 11 pays sont à l'origine de plus de 50 cas déclarés dans l'année. Ils comptabilisent 1994 cas soit 92,3 % du total des cas déclarés

**Tableau 13.** Répartition des cas en fonction du profil épidémiologique pour les 17 pays de contamination les plus fréquemment cités en 2014, n=2161

Résidence	Total des cas		Civils voyageurs		Civils résidents		Militaires	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Cote d'Ivoire	638	27.8	480	31.0	87	22.8	12	7.7
Cameroun	403	17.5	300	19.4	61	16.0	1	0.6
Mali	209	9.1	151	9.7	26	6.8	10	6.4
Centrafrique	179	7.8	41	2.7	28	7.3	104	66.7
Guinée	98	4.3	81	5.2	11	2.9	0	0.0
Burkina Faso	95	4.1	63	4.1	18	4.7	4	2.6
Togo	91	4.0	73	4.7	13	3.4	0	0.0
Congo	79	3.4	58	3.7	15	3.9	0	0.0
Gabon	77	3.4	37	2.4	31	8.1	6	3.9
Sénégal	69	3.0	54	3.5	5	1.3	0	0.0
Benin	56	2.4	37	2.4	14	3.7	0	0.0
Tchad	44	1.9	28	1.8	7	1.8	6	3.9
Nigeria	36	1.6	18	1.2	15	3.9	0	0.0
Congo RDC-Zaïre	24	1.0	16	1.0	8	2.1	0	0.0
Ghana	24	1.0	18	1.2	4	1.1	0	0.0
Pakistan	21	0.9	16	1.0	1	0.3	0	0.0
Angola	18	0.8	8	0.5	10	2.6	0	0.0
<b>Total</b>	<b>2161</b>	<b>94,0</b>	<b>1479</b>	<b>95,5</b>	<b>354</b>	<b>92,7</b>	<b>143</b>	<b>91,8</b>

**Tableau 14 :** Evolution des cas de Paludisme d'importation en provenance des Comores pour les 12 centres correspondants du CNR du Paludisme les plus concernés par cette population.

Hôpital déclarant	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Marseille-HIA Laveran	51	54	8	15	13	0
Bobigny-Avicenne	5	11	1	1	1	0
Colombes-Louis Mourier	0	6	2	0	0	0
Kremlin-Bicêtre	4	6	0	0	2	0
Lyon-Rockefeller-HEH	12	12	3	5	5	0
Marseille-Nord	38	27	1	4	1	0
Marseille-Timone	18	14	6	1	2	1
Nice	19	10	3	2	0	0
Nîmes	1	7	0	0	0	0
Paris-Bichat	11	8	2	2	4	0
Paris-Robert Debré	4	5	0	0	1	0
Saint-Denis	10	16	1	4	8	0
<b>Total 12 hôpitaux</b>	<b>173</b>	<b>176</b>	<b>27</b>	<b>34</b>	<b>37</b>	<b>1</b>

### Méthodes diagnostiques et espèces plasmodiales

La méthode diagnostique est connue pour 2285 cas (99,4%) et présentée dans la Figure 13. **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**

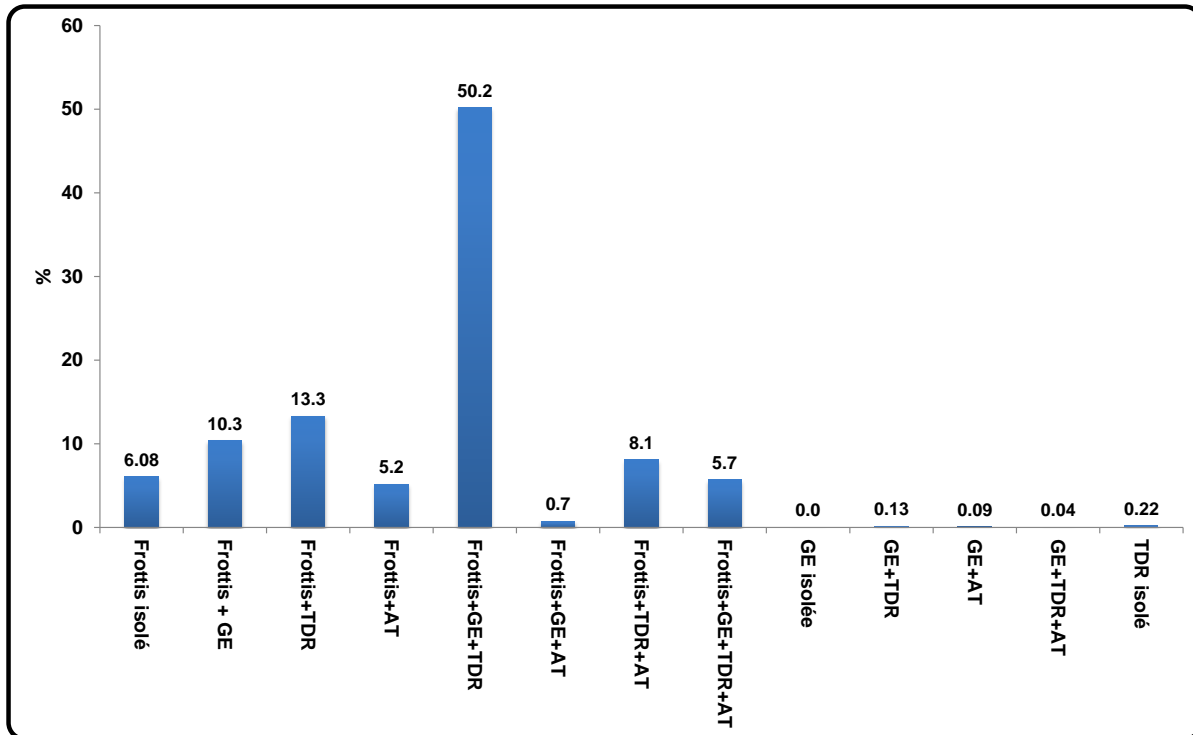


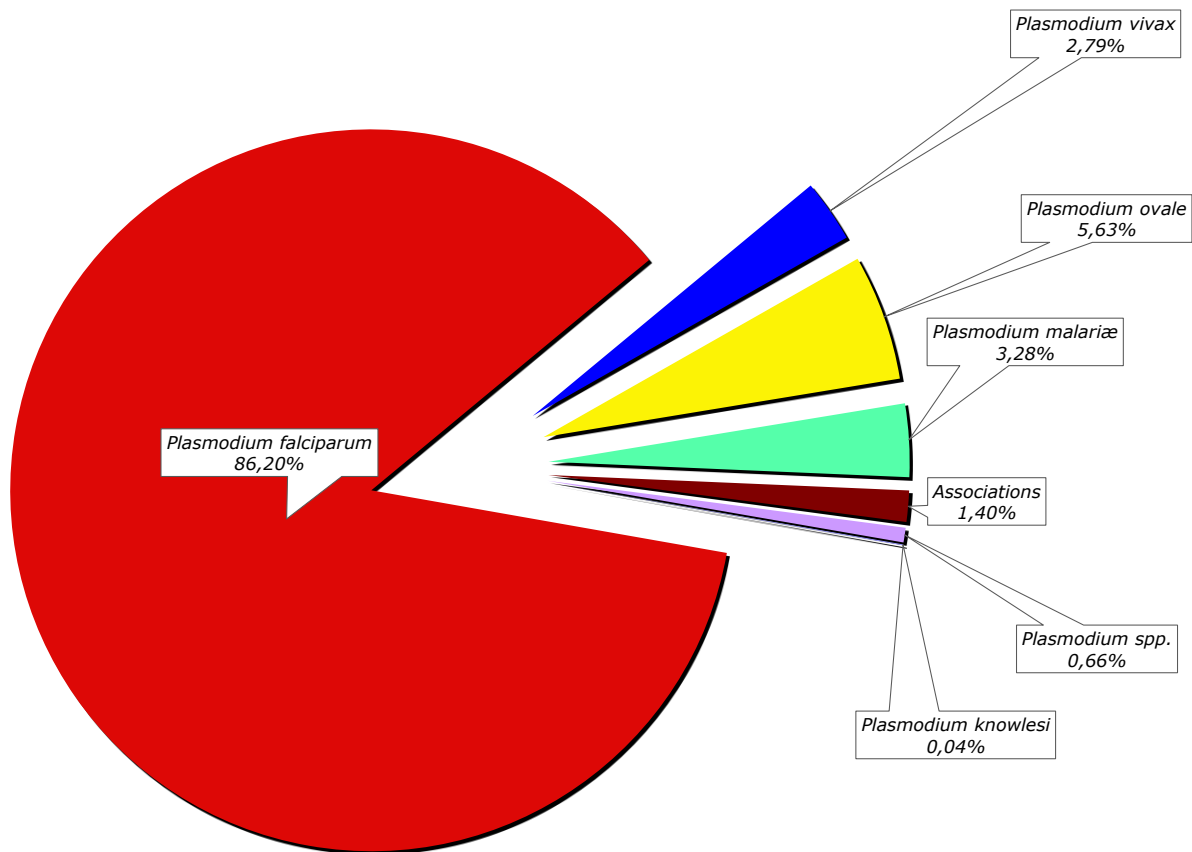
Figure 13: Méthode de diagnostic de l'accès palustre, n = 2285

AT = autre technique

Le frottis sanguin mince et la goutte épaisse sont associés systématiquement dans 66,9 % des cas (+1,8 % par rapport à 2013). La détection antigénique sur bandelettes lorsqu'elle est réalisée, est associée à une méthode microscopique dans la presque totalité des cas (99,8 %).

Parmi les 2 299 cas déclarés de paludisme importé en France métropolitaine, l'espèce plasmodiale responsable est identifiée dans 2 290 (99,6 %) cas par les correspondants. Elle a pu être vérifiée (microscopie ou PCR) au CNR du paludisme sur les échantillons adressés (lames et/ou sang total) dans 1 614 cas (70,2 %). Sur l'ensemble des diagnostics rendus par les correspondants, corrigés si besoin par les résultats d'expertise des laboratoires du CNR du Paludisme lorsqu'un échantillon avait été adressé, l'espèce *P. falciparum* représente la majorité des infections, elle est identifiée dans 1 972 cas (86,2 %). Ce résultat n'est pas différent des 87,6% identifiés en 2013. Parmi les 2 148 cas (93,4%) pour lesquels à la fois la région d'acquisition et l'espèce infectieuse étaient connues, *P. falciparum* est responsable de 88,4 % des infections acquises en Afrique et de 18,4 % des infections acquises en Asie (Tableau 15). *Plasmodium ovale*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. knowlesi* les infections mixtes et les espèces non identifiées sont retrouvés dans 129 (5,63 %), 64 (2,8 %), 75 (3,3 %), 1 (0,0 %), 32 (1,4 %) et 15 (0,7 %) cas respectivement (Figure 14. **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Les infections à *P. malariae* sont pour la première fois majoritaires par rapport à *P. vivax*. Elles augmentent en proportion mais également en valeur absolue. Ceci s'explique essentiellement par le nombre moins important de cas acquis dans les zones à *P. vivax* majoritaires ou très prévalent en Asie, en Amérique Centrale-Amérique du Sud ou dans les îles de l'Océan Indien.





**Figure 14.** Distribution cas de Paludisme d'importation par espèces, France métropolitaine, 2014, n = 2290

Les espèces plasmodiales diagnostiquées par les correspondants en fonction de la région d'endémie visitée sont rapportées dans le Tableau 15 et le Tableau 16. On observe sans surprise une prédominance de *P. falciparum* en Afrique alors que *P. vivax* prédomine en Amérique Latine. Quinze accès imputés à *P. vivax* ont un pays d'Afrique sub-Saharienne pour origine incriminée de contamination, dans 6 cas la Mauritanie, dans 3 cas l'Erythrée, dans 2 cas le Sénégal et dans 1 cas chacun Madagascar et la République Centrafricaine. Dans 9 cas la PCR a été mise en œuvre et elle a confirmé le diagnostic à chaque fois pour 5 voyages déclarés en Mauritanie, 2 en Erythrée, 1 à Madagascar et 1 au Sénégal. Madagascar et l'Erythrée en Afrique de l'Est sont largement connues comme des zones de transmission de cette espèce. La Mauritanie héberge essentiellement *P. falciparum*, mais des données épidémiologiques récentes indiquent que *P. vivax* prédomine dans la zone saharienne du pays. Peu de données concernent cette espèce pour le Sénégal qui est frontalier de la Mauritanie au Nord avec des voyages fréquents d'un côté ou de l'autre de la frontière pour des échanges commerciaux ou familiaux. Le cas repéré en République Centrafricaine n'est pour sa part pas du tout attendu, l'échantillon ou la lame n'ont pas été adressés, puisqu'il correspond à un militaire déployé dans ce pays et déclaré par le CESPA. Le profil épidémiologique de ce dernier cas indique qu'il a pu se contaminer lors d'un séjour antérieur dans une zone d'endémie habituelle de *P. vivax*, probablement la Guyane (pas de retour sur ce cas).

Hors Afrique, les cas sud-américains, n = 19 correspondent essentiellement aux cas Guyanais, n=14 dont 10 chez des militaires, 3 cas sont rapportés au retour du Pérou, et un cas au retour de Bolivie et du Brésil respectivement. Il s'agissait de *P. vivax* dans la totalité des cas, une prophylaxie était déclarée pour 10 sujets, tous des militaires et le délai retour-diagnostic était supérieur à 30 jours dans 12 cas. Les cas asiatiques n=38, dont 21 au retour du Pakistan, essentiellement (17 sur 18 renseignés) chez des sujets nés ou originaires du Pakistan en voyage dans leur famille, 6 en Inde, 4 au Cambodge, 2 en Thaïlande et 1 en Afghanistan, en Malaisie, aux Philippines et au Vietnam respectivement. Il s'agissait de *P. vivax* dans 30 cas, inclus tous les cas pakistanais, de *P. falciparum* dans 7 cas et de *P. knowlesi* dans 1 cas. Les cas à *P. falciparum* étaient déclarés pour des voyages en Inde (n = 2) et respectivement au Cambodge, au Vietnam, en Thaïlande et aux Philippines (n=1). Un cas à *P. knowlesi* a été signalé par nos correspondants en 2014 au retour d'Indonésie : il s'agit d'un voyageur qui a voyagé pendant un mois en Thaïlande puis un mois à Sumatra et les îles environnantes dont Pulau-Weh, et qui a fini son voyage par 3 jours à Bangkok avant de rentrer en France. Il n'a pas pris de chimioprophylaxie pendant son voyage, et il

a séjourné dans des guest-houses, et a randonnée en forêt. Durant les 8 jours de son séjour sur l'île de Pulau-Weh, il était au quotidien au contact des singes Macaques. Lors de ses derniers jours à Bangkok, il a présenté des épisodes rythmés de fièvre tous les 24 heures, associés à des céphalées et une diarrhée. A son retour en France, les symptômes ont persisté et il a consulté 3 jours plus tard aux urgences d'un hôpital universitaire. Une recherche de paludisme réalisée à son arrivée a révélé des formes plasmodiales suggérant *Plasmodium vivax*, associé à un test de diagnostic rapide négatif pour la recherche d'histidin rich protein 2, spécifique de *P. falciparum* et positif pour la recherche d'aldolase pan-plasmodiale. Cependant, les éléments épidémiologiques et cliniques associés à l'aspect atypique des formes parasitaires observées, ont fait suspecter une infection par *Plasmodium knowlesi* qui a été confirmé par PCR par le CNR. Le patient a été traité avec succès par la chloroquine.

Trois cas sont isolés à Haïti dans les Antilles, 2 accès à *P. falciparum* et un accès à *P. ovale* confirmé en biologie moléculaire. Il s'agit d'un sujet caucasien, en mission humanitaire qui a également voyagé en Ouganda à des dates qui ne sont pas précisées. L'origine de la contamination peut être attribuable au séjour en Ouganda. Un cas à *P. falciparum* est isolé au moyen Orient en Arabie saoudite au retour d'un pèlerinage d'une semaine à la Mecque chez un sujet de 54 ans, originaire du Bénin résidant en France métropolitaine. La fièvre survient le lendemain du retour et le diagnostic est posé 12 jours après son départ de France pour cette destination avec une charge parasitaire mesurée par le CNR du Paludisme à 3,4%. L'absence théorique de risque de transmission à la Mecque conjuguée aux origines du sujet, au temps très court entre une exposition et le diagnostic ainsi que l'intensité de la parasitémie au moment du diagnostic font évoquer une possible contamination lors d'une escale ou d'un court séjour en Afrique subsaharienne pour préparer le voyage. Un cas à *P. falciparum* est diagnostiqué au retour de Papouasie-Nouvelle-Guinée chez un sujet originaire de l'île dans la région Pacifique.

**Tableau 15.** Répartition des espèces en effectifs et en pourcentages dans les différentes régions et sous continents en 2014 pour la population totale

		<i>Pf</i>		<i>Pv</i>		<i>Po</i>		<i>Pm</i>		<i>Psp</i>		<i>Pk</i>		<i>Mixte</i>		<i>Total</i>	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Am. Lat.	Caraïbes	0	0,0	18	28,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	3,1	19	0,8
Am.	Centrale	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<b>Total Amérique</b>		<b>0</b>	<b>0,0</b>	<b>18</b>	<b>28,1</b>	<b>0</b>	<b>0,0</b>	<b>0</b>	<b>0,0</b>	<b>0</b>	<b>0,0</b>	<b>0</b>	<b>0,0</b>	<b>1</b>	<b>3,1</b>	<b>19</b>	<b>0,8</b>
Afrique	Ouest	1194	60,6	7	10,9	74	57,4	35	46,7	9	60,0	0	0,0	15	46,9	1334	58,3
	Centrale	719	36,5	2	3,1	48	37,2	35	46,7	5	33,3	0	0,0	16	50,0	825	36,1
	Est	16	0,8	5	7,8	3	2,3	3	4,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	27	1,8
	Nord	3	0,2	1	1,6	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	4	0,2
	Australe	3	0,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	0,1
	SAI	2	0,1	0	0,0	1	0,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	0,1
<b>Total Afrique</b>		<b>1937</b>	<b>98,4</b>	<b>15</b>	<b>23,4</b>	<b>126</b>	<b>97,7</b>	<b>73</b>	<b>97,4</b>	<b>14</b>	<b>93,3</b>	<b>0</b>	<b>0,0</b>	<b>31</b>	<b>96,9</b>	<b>2196</b>	<b>96,6</b>
Asie	Sud-Est	4	0,2	4	6,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	100,0	0	0,0	9	0,4
	Sud	2	0,1	26	40,6	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	28	1,2
	Sud-Ouest	1	0,05	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,04
<b>Total Asie</b>		<b>7</b>	<b>0,4</b>	<b>30</b>	<b>46,9</b>	<b>0</b>	<b>0,0</b>	<b>0</b>	<b>0,0</b>	<b>0</b>	<b>0,0</b>	<b>1</b>	<b>100,0</b>	<b>0</b>	<b>0,0</b>	<b>38</b>	<b>1,6</b>
Les Antilles		2	0,1	0	0,0	1	0,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	0,1
Pacifique		1	0,05	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,04
Moyen-Orient		1	0,05	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,04
Non renseignés		24	1,2	1	1,6	2	1,6	2	2,7	1	6,7	0	0,0	0	0,0	30	1,3
<b>Total général</b>		<b>1972</b>	<b>100,0</b>	<b>64</b>	<b>100,0</b>	<b>129</b>	<b>100,0</b>	<b>75</b>	<b>100,0</b>	<b>15</b>	<b>100,0</b>	<b>1</b>	<b>100,0</b>	<b>32</b>	<b>100,0</b>	<b>2288</b>	<b>100,0</b>

*Pf*=*P. falciparum* ; *Pv*=*P. vivax* ; *Po*=*P. ovale* ; *Pm*=*P. malariae* ; *Psp*=*P. species* ; ° SAI : sans autre indication

**Tableau 16** : Répartition par espèces en pourcentage dans les différentes régions et sous continents en 2014

		<i>Pf</i>	<i>Pv</i>	<i>Po</i>	<i>Pm</i>	<i>Psp</i>	<i>Pk</i>	Mixte	Total
Am. Lat. Caraïbes		0.0	94.7	0.0	0.0	0.0	0.0	5.3	100,0
Am. Centrale		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0,0
<b>Total Amérique</b>		<b>0,0</b>	<b>94,7</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>100,0</b>
Afrique	Ouest	89.5	0.5	5.6	2.6	0.7	0.0	1.1	100,0
	Centrale	87.2	0.2	5.8	4.2	0.6	0.0	1.9	100,0
	Est	59.3	18.5	11.1	11.1	0.0	0.0	0.0	100,0
	Nord	75.0	25.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100,0
	Australe	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100,0
	SAI	66.7	0.0	33.3	0.0	0.0	0.0	0.0	100,0
<b>Total Afrique</b>		<b>88,2</b>	<b>0,7</b>	<b>5,7</b>	<b>3,3</b>	<b>0,6</b>	<b>0,0</b>	<b>1,4</b>	<b>100,0</b>
Asie	Sud-Est	44.4	44.4	0.0	0.0	0.0	11.1	0.0	100,0
	Sud	7.1	92.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100,0
	Sud-Ouest	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100,0
<b>Total Asie</b>		<b>18,4</b>	<b>78,9</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>2,6</b>	<b>0,0</b>	<b>100,0</b>
Les Antilles		66.7	0.0	33.3	0.0	0.0	0.0	0.0	100,0
Pacifique		100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100,0
Moyen-Orient		100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100,0
Non renseignés		80.0	3.3	6.7	6.7	3.3	0.0	0.0	100,0
<b>Total général</b>		<b>91,8</b>	<b>3,0</b>	<b>6,0</b>	<b>3,5</b>	<b>0,7</b>	<b>0,05</b>	<b>1,5</b>	<b>100,0</b>

*Pf*=*P. falciparum* ; *Pv*=*P. vivax* ; *Po*=*P. ovale* ; *Pm*=*P. malariae* ; *Psp*=*P. species* SAI : sans autre indication

La concordance entre le diagnostic d'espèce en microscopie réalisé par les correspondants et les confirmations du CNR du Paludisme est présentée dans le Tableau 17.

La comparaison est basée sur la concordance des résultats (diagnostic d'espèce) obtenus par 2 observateurs après lecture en microscopie optique d'un frottis sanguin mince ou d'une goutte épaisse, des mêmes lames ou du même échantillon sanguin. La concordance entre les observations est matérialisée par la valeur Kappa ( $K^2$ ).

<sup>2</sup> [http://www.pacea.u-bordeaux1.fr/IMG/pdf/Kappa\\_Cohen.pdf](http://www.pacea.u-bordeaux1.fr/IMG/pdf/Kappa_Cohen.pdf)

**Tableau 17.** Concordance entre l'espèce déclarée et l'espèce confirmée en microscopie optique après réception au CNR du Paludisme en 2014

	Vérification de l'espèce par le CNR du Paludisme							Total
	Pf	Pv	Po	Pm	Psp	Pk	Inf. mixte	
Pf	1388	0	1	1	0	0	6	1396
Pv	1	42	2	0	0	0	0	45
Po	2	4	81	2	0	0	1	90
Pm	1	0	5	46	0	0	1	53
Psp	5	1	2	0	0	0	0	8
Pk	0	0	0	0	0	1	0	1
Inf. Mixte	11	0	6	1	0	0	3	21
Total	1408	47	97	50	0	1	11	1614

Kappa (95% CI) = 0,86 (0,85 – 0,88)

	Vérification de l'espèce par le CNR du Paludisme					
	Pf	Pv	Po	Pm	Pk	Inf. mixte
Pf	0,92 (0,90 - 0,95)					
Pv		0,91 (0,85 - 0,97)				
Po			0,86 (0,80 - 0,91)			
Pm				0,89 (0,83 - 0,95)		
Pk					1,00 (1,00 - 1,00)	
Inf. Mixte						0,18 (0,01 - 0,36)

#### Interprétation.

Remarques générales— Le coefficient K est toujours compris entre -1 et +1 (accord maximal). Habituellement, on utilise le « barème » suivant pour interpréter la valeur  $\kappa$  obtenue : < 0 Grand désaccord 0.00 – 0.20 Accord très faible 0.21 – 0.40 Accord faible 0.41 – 0.60 Accord moyen 0.61 – 0.80 Accord satisfaisant 0.81 – 1.00 Accord excellent. Il s'agit de la grille de lecture proposée par Landis et Koch<sup>3</sup>, mais elle n'est pas universellement acceptée, en bonne partie car elle ne prend pas compte le fait que l'interprétation du kappa de Cohen doit être modulée par le nombre de stades possibles. En effet, le kappa aura toujours tendance à être plus faible pour un grand nombre de stades possibles, que pour seulement deux stades à attribuer : il est plus facile de se mettre d'accord sur « Plutôt Noir / Plutôt Blanc » que sur toute une palette comportant 5000 gris ! Ainsi, par exemple, un  $K = 0.40$  pourra être considéré comme très médiocre si deux juges avaient seulement à choisir entre deux scores A et B, mais pourra

<sup>3</sup> J.R. Landis and G.G. Koch. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, (33) :159–174, 1977

être perçu comme honorable s'ils devaient choisir entre 10 stades différents. La table de Landis et Koch ne fournit donc qu'un guide de lecture, à compléter par l'expertise du praticien<sup>4</sup>.

Nombre de stades possibles pour le diagnostic d'infections mixtes avec les Plasmodiums humains : 5 espèces n=26 possibilités d'infections mixtes !!! Mais leur possibilité de survenue n'est pas équivalente !

La concordance entre les laboratoires du CNR du paludisme et leurs correspondants pour la biologie reste globalement excellente, valeur K = 0,86 (0,85 – 0,88) et reste très voisine de la valeur obtenue en 2013 (0,84). Elle est excellente pour l'espèce *P. falciparum*, K = 0,92 (0,90 - 0,95) de même que pour les espèces *P. vivax*, K = 0,91 (0,85 - 0,97), *P. ovale* K = 0,86 (0,80 - 0,91) et *P. malariae*, K = 0,89 (0,83 - 0,95).

Les tests antigéniques et la PCR sont maintenant une aide au diagnostic des espèces *P. falciparum* et *P. vivax* dans de nombreux laboratoires. Les infections mixtes sans distinction d'espèces sont modérément repérées par les correspondants, ce qui est absolument logique et conforme aux résultats attendus et publiés dans la littérature, la PCR corrige les erreurs de la microscopie pour les identifications d'espèces.

### Présentation clinique à l'entrée

Les accès déclarés étaient des accès simples avec ou sans vomissements dans 85,9 % des cas, toutes espèces confondues (Tableau 18). Les accès graves sont presque exclusivement observés avec l'espèce *P. falciparum*, seul ou en association 98 % (291/297). Les 6 accès graves avec une espèce autre que *P. falciparum* correspondent à *P. vivax*, n = 1 ; *P. ovale*, n = 3 et *P. malariae*, n = 2. Comme attendu, les sujets les plus âgés ≥ 60 ans sont plus à risque d'accès graves (28,1 %) que les sujets plus jeunes (Tableau 19). On note encore cette année une augmentation en nombre et en proportion des accès graves.

**Tableau 18.** Types des accès cliniques en effectifs et en pourcentages en fonction des espèces plasmodiales pour la population totale en 2014, n = 2 260.

Type d'accès	Pf		Pv		Po		Pm		P spp		Pk		Mixte		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Asymptomatique	15	0.8	0	0.0	2	1.6	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	3.1	18	0.8
Simple vom. Non	1203	61.8	40	63.5	98	77.2	61	81.3	13	86.7	1	100.0	23	71.9	1439	63.7
Simple vom. Oui	441	22.7	22	34.9	24	18.9	12	16.0	1	6.7	0	0.0	3	9.4	503	22.3
Grave	286	14.7	1	1.6	3	2.4	2	2.7	0	0.0	0	0.0	5	15.6	297	13.1
PVE*	2	0.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	6.7	0	0.0	0	0.0	3	0.1
<b>Total</b>	<b>1947</b>	<b>100,0</b>	<b>63</b>	<b>100,0</b>	<b>127</b>	<b>100,0</b>	<b>75</b>	<b>100,0</b>	<b>15</b>	<b>100,0</b>	<b>1</b>	<b>100,0</b>	<b>32</b>	<b>100,0</b>	<b>2260</b>	<b>100,0</b>

\*Paludisme viscéral évolutif ; vom : vomissements

<sup>4</sup>. R. Bakeman, V. Quera, D. McArthur, and B.F. Robinson. Detecting sequential patterns and determining their reliability with fallible observers. *Psychological Methods*, (2) :357–370, 1997.

**Tableau 19.** Type des accès cliniques à *P. falciparum* (seul ou en association) en effectif et en pourcentage, en fonction de l'âge pour la population totale en 2014.

Type d'accès	≤ 2 ans		3 – 14 ans		15 – 59 ans		≥ 60 ans	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Asymptomatique	0	0.0	6	3.0	8	0.5	2	1.2
Simple vom. Non	25	64.1	89	44.1	1014	64.8	94	56.3
Simple vom. Oui	10	25.6	82	40.6	328	21.0	24	14.4
Grave	4	10.3	25	12.4	214	13.7	47	28.1
PVE*	0	0.0	0	0.0	2	0.1	0	0.0
<b>Total</b>	<b>39</b>	<b>100,0</b>	<b>202</b>	<b>100,0</b>	<b>1566</b>	<b>100,0</b>	<b>167</b>	<b>100,0</b>

\*Paludisme viscéral évolutif ; vom : vomissements

### Evolution des accès

Dans la grande majorité des cas l'évolution des accès a été favorable. Elle est donnée dans le **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** en fonction de l'état clinique et dans le Tableau 21 en fonction de l'âge. Les patients sont considérés comme perdus de vue (pas de contrôle parasitologique ou d'information clinique à J28) pour 1180 cas (51,3 %). Aucun de ces patients perdus de vue n'a présenté une rechute capturée par le réseau (52,0 % de couverture du territoire national) et on peut raisonnablement les considérer comme guéris. Onze décès imputables au paludisme d'importation ont été déclarés au CNR du Paludisme en 2014. Ils sont dus à *P. falciparum* dans la totalité des cas. Tous les sujets sont des adultes, le sex-ratio hommes/femmes est de 1,2 (6/5), 45 % sont des africains ce qui est inhabituel. L'analyse des cas graves est traitée spécifiquement au chapitre 3.4.

**Tableau 20.** Evolution clinique des accès en fonction du type d'accès clinique, en effectifs et en pourcentages pour la population totale en 2014.

Type d'accès	Guérison		Décès		Perdu de vue		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Asymptomatique	6	0,6	0	0,0	12	1,0	18	0,8
Simple vom. Non	650	60,3	0	0,0	796	67,5	1447	63,8
Simple vom. Oui	241	22,4	0	0,0	263	22,3	504	22,2
Grave	180	16,7	11	100,0	107	9,1	297	13,1
PVE*	1	0,1	0	0,0	2	0,1	3	0,1
<b>Total</b>	<b>1078</b>	<b>100</b>	<b>11</b>	<b>100</b>	<b>1180</b>	<b>100</b>	<b>2269</b>	<b>100</b>

\*Paludisme viscéral évolutif ; vom : vomissements

**Tableau 21.** Evolution des accès cliniques en effectifs et en pourcentages en fonction de l'âge pour la population totale, n=2 297

	≤ 2 ans		3 – 14 ans		15 – 59 ans		≥ 60 ans	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Guérison	23	52,3	126	53,4	837	45,9	93	47,9
Décès	0	0,0	0	0,0	5	0,3	6	3,1
Perdu de vue	21	47,7	110	46,6	981	53,8	95	49,0
<b>Total</b>	<b>44</b>	<b>100,0</b>	<b>236</b>	<b>100,0</b>	<b>1823</b>	<b>100,0</b>	<b>194</b>	<b>100,0</b>

### Délai d'apparition des symptômes, délai de diagnostic, paludisme de survenue tardive. Densité parasitaire

**Délai d'apparition des symptômes.** Il est calculé comme la date des premiers symptômes de la maladie moins la date du retour en France métropolitaine. Il varie avec l'espèce plasmodiale en cause. Ces caractéristiques sont données dans le Tableau 22. La valeur médiane toutes espèces confondues et de 6 jours, largement influencée par l'espèce *P. falciparum* (5 jours) très majoritaire dans notre recueil. Pour

les espèces *P. ovale* et *P. vivax*, les reviviscences ne sont pas différenciées des accès de primo-invasion, ce qui explique la durée du délai médian d'apparition des symptômes très élevé pour ces espèces, de l'ordre de 40 à 50 jours pour les 2 espèces. L'espèce *P. malariae* est intermédiaire entre ces deux valeurs, 20 jours.

**Tableau 22.** Délai d'apparition des symptômes (en jours) par rapport à la date du retour de la zone d'endémie en fonction de l'espèce plasmodiale pour l'année 2014, n = 1813

	N	Moy.	ET	Med.	IQ25-75	
<i>P falciparum</i>	1577	19.7	318.5	5	0	10
<i>P vivax</i>	45	104.5	142.9	38	7	183
<i>P ovale</i>	93	112	191.5	51	15	133
<i>P malariae</i>	64	37.3	61.7	20	0	51
<i>P knowlesi</i>	1	.	.	.	.	.
Mixte	23	33	71.4	5	0	37
<i>P sp</i>	10	19.6	34.1	9	0	15
<b>Toutes espèces</b>	1813	27.3	302.3	6	0	12

**Délai de diagnostic.** Il est calculé comme la date du diagnostic moins la date d'apparition des symptômes. Le délai diagnostic est détaillé dans le Tableau 23 en fonction des espèces plasmodiales identifiées.

**Tableau 23.** Délai diagnostic (en jours) en fonction de l'espèce plasmodiale pour l'année 2014, n = 1902.

	N	Moy.	ET	Med.	IQ25-75	
<i>P falciparum</i>	1651	5	7	3	2	5
<i>P vivax</i>	49	5.6	9.9	4	2	7
<i>P ovale</i>	101	8	12.7	5	3	8
<i>P malariae</i>	64	11.5	11.5	8	3	15
<i>P knowlesi</i>	1	.	.	.	.	.
Mixte	25	7.2	7.3	5	3	8
<i>P sp</i>	11	8.9	17.6	3	1	9
<b>Toutes espèces</b>	1902	5.4	7.9	3	2	6

La valeur médiane du délai diagnostic, temps écoulé entre l'apparition des symptômes et le diagnostic, est de 3 jours (IQ<sub>25-75</sub> = 2-6). Il dépend évidemment de l'espèce *P. falciparum*, largement majoritaire dans notre recueil. Si l'on compare les espèces, le délai médian est très proche pour les espèces *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. ovale*, 3 à 5 jours. On met en évidence une différence statistiquement significative entre ces différentes espèces et *P. malariae* 8 jours. Ceci peut s'expliquer par la croissance plus lente du parasite qui met 1/3 de temps en plus pour accomplir son cycle (72h Vs 48h) et qui produit moins de mérozoïtes à chaque cycle (4 à 8 seulement). L'importance de la charge parasitaire est un élément majeur pour expliquer l'apparition des signes cliniques.

### Paludisme de survenue tardive.

On le définit comme des accès palustres survenant plus d'une année après la sortie de la zone d'endémie. Ils sont classiques pour les espèces *P. vivax* et *P. ovale* du fait de la possibilité de survenue d'accès dit de reviviscence à partir de stades parasitaires hépatiques quiescents, les hypnozoïtes. De même, bien que l'existence de ces formes quiescentes n'ait pas été établie pour l'espèce *P. malariae*, la survenue d'accès tardifs, parfois plusieurs mois ou années après la sortie de la zone d'endémie n'est pas



exceptionnelle. A l'inverse, pour l'espèce *P. falciparum*, cette présentation est très inhabituelle et fait systématiquement envisager une contamination récente en ou hors zone d'endémie, non renseigné lors de l'examen initial du patient. Des éléments nouveaux en particulier dans le diagnostic relancent l'intérêt de l'étude de ces cas. Pour l'année 2014, 2142 patients (93,2 %) sont renseignés pour les dates de retour et de diagnostic. Des formes tardives, avec un délai retour / diagnostic supérieur à 1 an, sont identifiées à 26 reprises (1,2 %). Dans 10 cas pour *P. ovale* (8,5 %), 7 cas *P. vivax* (13 % des cas) et à 9 reprises pour l'espèce *P. falciparum* (0,5 %). Concernant *P. falciparum*, Il s'agit de 6 hommes et 3 femmes (dont une femme enceinte), sex-ratio H/F = 2. Six sur 8 cas renseignés sont originaires d'Afrique subsaharienne et migrants résidant en France métropolitaine. En particulier, deux sont des hommes en attente de greffe (cœur et cornée) avec un suivi médical renforcé, en France depuis respectivement 14 et 18 mois. L'âge moyen est de 35 ans pour une médiane de 34 ans. Le délai de survenue de l'accès après l'arrivée en France varie de 14 à 75 mois (1,2-6,2 ans). Il s'agit de 7 accès simples, 1 paludisme viscéral évolutif et 1 accès asymptomatique. La présentation clinique des accès simples était un syndrome fébrile dans 8 cas sur 9, isolé dans 3 cas ou associé à des arthralgies ou des signes digestifs. L'espèce diagnostiquée *P. falciparum* a pu être vérifiée et confirmée par le CNR du Paludisme dans 5 cas par l'envoi d'un tube de sang total. La parasitémie était faible, <0,5 % dans 8 cas sur 9 et elle était à 2,0 % dans le dernier cas. Le traitement, renseigné dans les 9 cas a consisté en un traitement per os dans 8 cas sur 9 et par quinine IV initialement relayé par atovaquone-proguanil après 24 heures pour des vomissements.

**Mesure de la charge parasitaire pour l'espèce *P. falciparum*.** Les caractéristiques de la parasitémie en fonction du type d'accès, de l'âge et de la zone d'origine des personnes sont présentées dans le Tableau 24.

La parasitémie à *P. falciparum* (seul ou en association) est connue pour 1 819 cas (92,0 %). Sa valeur médiane est fonction du type d'accès : 0,3% pour les accès simples sans vomissement versus 5,5% pour les accès graves. Ces valeurs sont stables entre 2006 et 2014. La différence pour l'âge  $\geq 15$  ans ou  $< 15$  ans est significative (test de médiane  $p < 0,001$ ). La parasitémie est globalement différente de façon statistiquement significative concernant l'ethnie (test de Kruskal-Wallis  $p < 0,001$ ).

**Tableau 24.** Cas à *Plasmodium falciparum* seul, caractéristiques de la parasitémie en fonction de l'état clinique, de l'âge et de la zone d'origine en 2014

		<b>N</b>	<b>Moy.</b>	<b>ET</b>	<b>Med.</b>	<b>IQ25-75</b>	
Type d'accès	<b>simple sans vomissement</b>	1095	0.9	1.7	0.3	0.1	1
	<b>simple avec vomissement</b>	410	1.6	2.9	<b>0.8</b>	0.2	2
	<b>Grave</b>	281	7.3	8	<b>5.5</b>	1.3	9.6
Age	<b>&lt; 15 ans</b>	222	2.8	5.4	0.9	0.3	3
	<b><math>\geq 15</math> ans</b>	1597	2	4.1	0.5	0.1	1.9
Ethnie	<b>Africain</b>	1336	1.7	3.7	0.5	0.1	1.8
	<b>Caucasien</b>	305	3.2	6	0.6	0.1	3.2
	<b>Asiatique</b>	5	2.4	3.4	0.6	0	3.5
	<b>Autre</b>	28	1.8	2.7	0.7	0.1	1.9

Les caractéristiques hématologiques des cas à *P. falciparum* seul sont présentées dans le Tableau 25 en fonction de l'état clinique. Les caractéristiques hématologiques diffèrent de manière statistiquement significative entre les accès simples et les accès graves (test de médiane  $p < 0,001$ ).



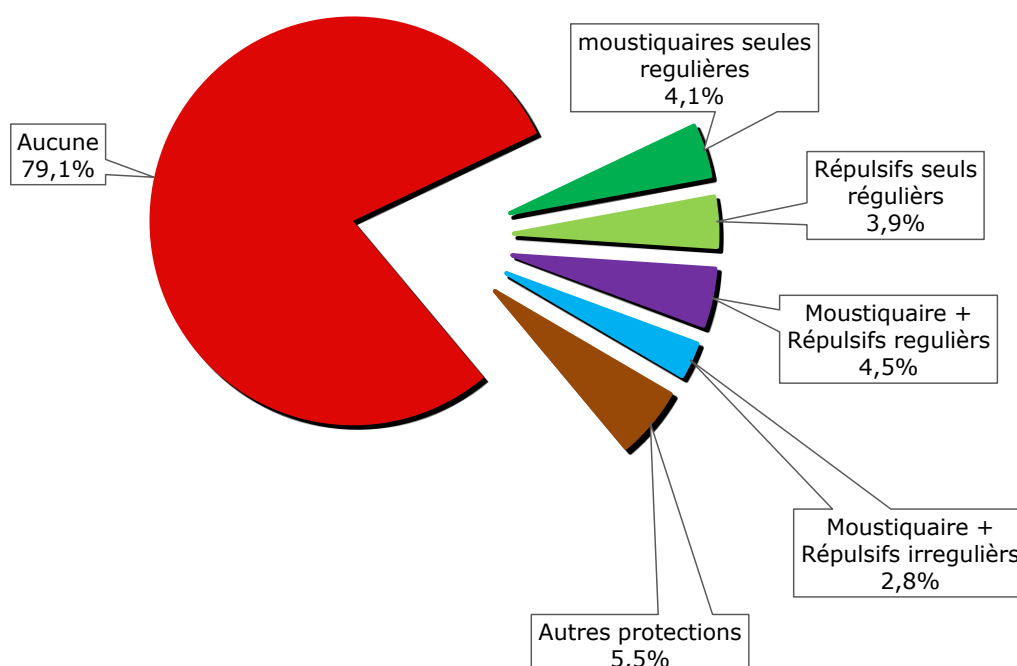
**Tableau 25.** Cas à *Plasmodium falciparum* seul, caractéristiques hématologiques des cas en fonction de l'état clinique en 2014.

		N	Moy.	ET	Med.	25e per	75e per
Hb (g/L)	simple sans vomissement	1120	129.7	20.1	<b>131</b>	118	143
	simple avec vomissement	412	122.7	21.2	<b>122</b>	110	139
	Accès grave	280	120	26.7	<b>123</b>	104.5	140
GR (T/L)	simple sans vomissement	1073	5.1	14.9	<b>4.7</b>	4.2	5
	simple avec vomissement	399	4.5	0.7	<b>4.5</b>	4	4.9
	Accès grave	238	4.2	0.9	<b>4.3</b>	3.7	4.8
GB (T/L)	simple sans vomissement						
	simple avec vomissement						
	Accès grave						
Plaquettes (G/L)	simple sans vomissement	1113	125	77.3	<b>110</b>	74	159
	simple avec vomissement	411	114.2	73	<b>100</b>	63	147
	Accès grave	281	76.5	85.9	<b>53</b>	31	90

### 3.1.2.2 Attitude prophylactique

#### *Protection personnelle anti-moustiques (PPAM)*

L'utilisation d'une protection personnelle anti vectorielle est renseignée dans 65,1% des cas. Plus de 79% des sujets n'utilisent aucune protection anti-vectorielle (Figure 15). Ces valeurs sont stables entre 2006-2014.



**Figure 15 :** Protection personnelle anti-moustiques (PPAM) en 2014, n = 1 495.

### Chimioprophylaxie alléguée

L'utilisation d'une prophylaxie médicamenteuse est renseignée pour 2080 dossiers (90,5 %). Un total de 1445 (69,5 %) personnes déclarent ne pas avoir suivi de chimioprophylaxie, 635 (30,5 %) déclarent avoir suivi une chimioprophylaxie. Parmi les gens qui déclarent suivre un traitement chimioprophylactique lors du séjour, le médicament est connu et la compliance précisée dans 506 cas (79,7%).

Un total de 510 personnes a fait un accès palustre à *P. falciparum* en ayant déclaré avoir pris une chimioprophylaxie. Parmi les gens qui déclarent suivre un traitement chimioprophylactique lors du séjour, le médicament est connu et la compliance précisée dans 409 cas (80,2 %). Parmi ceux-ci, 53 (13,0 %) ont pris un médicament qui n'était pas adapté à la zone visitée (CQ, P ou CQ+P). Lorsque le médicament est adapté à la zone visitée, dans 356 cas, les sujets déclarent une compliance inadaptée (arrêt prématuré ou observance irrégulière) dans 240 cas (58,7%). Enfin dans 116 cas les voyageurs affirment avoir suivi régulièrement une prophylaxie adaptée. La chimioprophylaxie alléguée par les personnes ayant fait un accès à *P. falciparum* est résumé dans le Tableau 26.

La doxycycline est le 1<sup>er</sup> traitement chimioprophylactique (62,6 %) déclaré par les patients qui ont fait un accès palustre sous chimioprophylaxie adaptée à la zone visitée, suivi par l'atovaquone-proguanil, puis la méfloquine.

Concernant la doxycycline, dans 73 cas, la prise de la molécule a été déclarée régulière, la nature du séjour était renseignée dans 70 (95,9 %) de ces cas et 51 (72,9 %) étaient des militaires.

Cette année, une alerte a été lancée par un correspondant de notre réseau de surveillance, également membre de la Société de Médecine des Voyages (SMV), concernant la prescription d'*Artemisia* en prophylaxie, avec des conséquences graves pour le patient (cf chapitre 4).

**Tableau 26.** Molécules utilisées en chimioprophylaxie en fonction de l'observance déclarée pour la population totale à *Plasmodium falciparum* en 2014 (n=409)

Chimioprophylaxie	Observance régulière		Observance irrégulière		Arrêt prématuré		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
CQ	10	7.1	11	9.1	4	2.7	25	6.1
PG	3	2.1	3	2.5	3	2.0	9	2.2
CQ+PG	9	6.4	5	4.1	5	3.4	19	4.7
MQ	21	15.0	11	9.1	23	15.5	55	13.5
AV+PG	20	14.3	17.4	17.4	30	20.3	71	17.4
DX	77	55.0	70	57.9	83	56.1	230	56.2
<b>Total</b>	<b>140</b>	<b>100,0</b>	<b>121</b>	<b>100</b>	<b>148</b>	<b>100</b>	<b>409</b>	<b>100,0</b>

### Chimioprophylaxie des accès à *P. falciparum* des cas inclus dans l'analyse des résistances

Les accès dus à un *Plasmodium* non *falciparum* ne sont pas considérés dans l'analyse de la chimioprophylaxie car des reviviscences peuvent se déclarer à distance de celle-ci ce qui rend l'analyse dans ce contexte difficile d'autant que la prise d'une chimioprophylaxie vis-à-vis de ce risque ne fait pas l'objet d'un consensus.

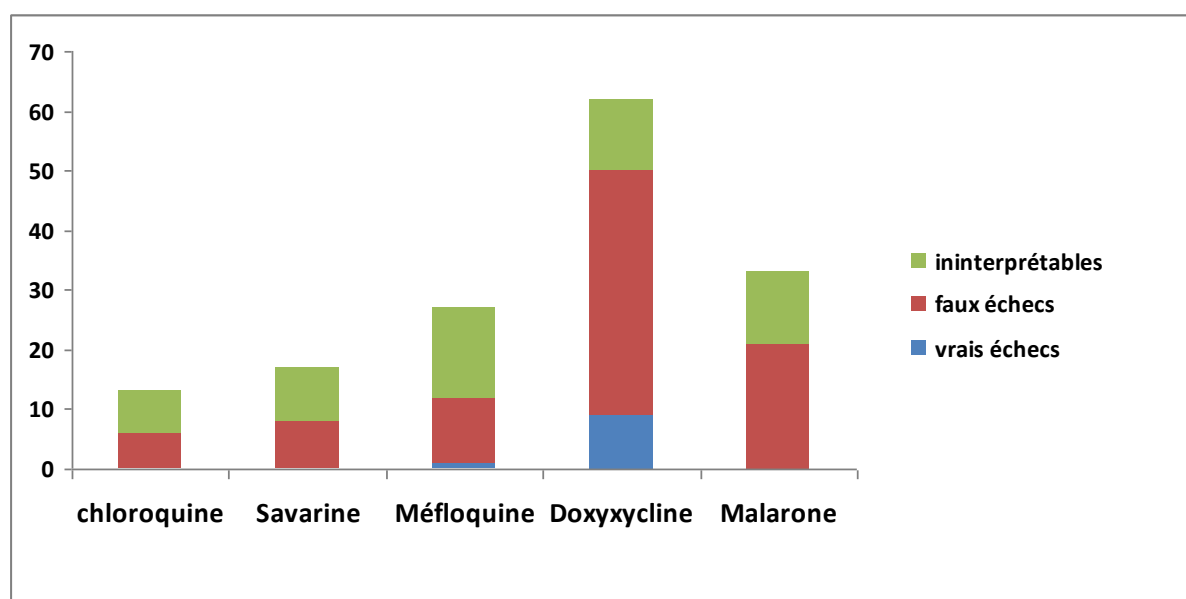
Parmi les 1370 patients ayant fait un accès confirmé à *P. falciparum*, 930 (67,9%) n'ont pas déclaré de chimioprophylaxie ; l'information est manquante dans 9% des cas (123 patients). Parmi les patients n'ayant pas déclaré de prise prophylactique, les dosages plasmatiques d'antipaludiques ont été positifs pour 68 (14,7%) des 464 prélèvements dosés, en faveur de la prise d'antipaludiques à visée thérapeutique témoignant d'une automédication potentielle.

Parmi les 409 patients ayant déclarés la prise d'une chimioprophylaxie et ayant fait un accès confirmé à *P. falciparum*, l'observance de la chimioprophylaxie de 152 patients (37,1%) est présentée dans le Tableau 27 à partir des dosages plasmatiques d'antipaludiques dans le plasma avant tout traitement prescrit. Cette confrontation permet de classer les échecs prophylactiques en échec vrai si l'antipaludique retrouvé dans le plasma est à une concentration efficace ou en faux échec si aucun antipaludique à une

concentration détectable n'a été retrouvé dans le plasma, en échec ininterprétable s'il est retrouvé à une concentration inefficace ne permettant pas de juger de la cinétique de prise du traitement. Aucun échec vrai à l'association atovaquone-proguanil (Malarone®) n'a pu être confirmé en 2014 (Figure 16).

**Tableau 27.** Interprétation après dosage plasmatique des échecs chimioprophylactiques pour une partie des accès à *P. falciparum* (n=152)

	Echec vrai	Faux échec	Ininterprétable	Total
<b>Chimioprophylaxie</b>	<b>N</b>	<b>N</b>	<b>N</b>	
CQ	0	6	7	13
CQ+PG	0	8	9	17
MQ	1	11	15	27
AV+PG	0	21	12	33
DX	9	41	12	62
Total	10	87	55	152



**Figure 16.** Classification des échecs prophylactiques selon les dosages plasmatiques

### Analyse des échecs prophylactiques

**Chloroquine** : tous les patients ayant déclaré avoir pris de la chloroquine revenaient de pays d'endémie classés dans le groupe 3. Aucun échec de retour d'un pays de zone 1 n'a été observé.

**Chloroquine + proguanil** (Savarine®) : tous les patients ayant déclaré avoir pris l'association chloroquine-proguanil revenaient de pays d'endémie classés dans le groupe 3, c'est-à-dire une prophylaxie inadaptée à leur séjour depuis 2008.

**Méfloquine** : un échec vrai (concentration en méfloquine considérée comme attendue c'est-à-dire  $\geq 680\mu\text{g/L}$ ) a été observé chez un patient de retour du Togo. La sensibilité de l'isolat à la méfloquine n'a pas pu être étudiée. Le patient a été traité avec succès par un dérivé de l'artémisinine.

**Atovaquone + proguanil** (Malarone®) : aucun échec vrai, c'est-à-dire, absence d'atovaquone à la concentration attendue et absence de proguanil et de cycloguanil dans le plasma des patients dont l'accès était survenu dans un délai compris entre 0 et 8 jours après le retour.

**Doxycycline** : 9 patients avaient une concentration chimioprophylactique de retour de Burkina Faso (1), du Cameroun (2), de République Centrafricaine (3), de Cote d'Ivoire (2), du Mali (1). Les échecs prophylactiques à la doxycycline sont d'exploration difficile en raison de l'élimination rapide de la molécule et en l'absence de connaissance de l'heure de la dernière prise. Les patients ayant déclarés la doxycycline comme chimioprophylaxie étaient des civils dans 52,2% des cas.

### 3.1.2.3 Prise en charge et traitement

#### **Prise en charge et traitement en 2014**

Le traitement curatif prescrit est renseigné dans 2211 (96.3%) dossiers. Les médicaments utilisés en première intention pour les enfants et pour les adultes sont présentés dans le Tableau 28.

Le traitement par l'association atovaquone-proguanil reste le traitement de première intention dans 48,7% des cas, suivi par les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine, l'association artémether-luméfantine pour 12,2% des cas (15,1% en 2013) et l'association dihydro-artémisinine-pipéraquline dans 10.9% des cas. La méfloquine est maintenant très peu prescrite.

Pour les traitements des accès graves, le traitement de première intention est l'artésunate IV, disponible sous ATU (Autorisation Temporaire d'Utilisation) depuis la fin du mois de mai 2011, qui a été prescrit par les correspondants du réseau dans 57,0% des accès graves (59,7% des adultes et 33,3% des enfants)

**Tableau 28.** Utilisation des médicaments de première intention en fonction du type d'accès et de l'âge pour l'ensemble de la population.

	< 15 ans				≥15 ans				Total	%
	Accès simples	%	Accès graves	%	Accès simples	%	Accès graves	%		
<b>QN-IV</b>	5	2,1	9	31,0	131	8,1	30	11,0	175	8,1
<b>QN-IV + DdC</b>	1	0,4	0	0,0	13	0,8	13	4,8	27	1,2
<b>QN-IV + ATB</b>	1	0,4	0	0,0	8	0,5	5	1,8	14	0,6
<b>QN-IV + DdC + ATB</b>	0	0,0	0	0,0	1	0,1	2	0,7	3	0,1
<b>QN-per os</b>	0	0,0	0	0,0	11	0,7	2	0,7	13	0,6
<b>AV + PG</b>	103	42,6	6	20,7	915	56,4	30	11,0	1054	48,7
<b>H</b>	1	0,4	0	0,0	1	0,1	0	0,0	2	0,1
<b>CQ</b>	28	11,6	0	0,0	116	7,2	2	0,7	146	6,7
<b>AM+L</b>	31	12,8	1	3,4	217	13,4	15	5,5	264	12,2
<b>Autre molécule</b>	1	0,4	0	0,0	8	0,5	1	0,4	10	0,5
<b>Ar</b>	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<b>P</b>	2	0,8	0	0,0	3	0,2	0	0,0	5	0,2
<b>As</b>	0	0,0	10	34,5	4	0,2	167	61,4	181	8,4
<b>Di</b>	47	19,4	0	0,0	184	11,3	4	1,5	235	10,9
<b>M</b>	22	9,1	3	10,3	10	0,6	1	0,4	36	1,7
<b>Total</b>	242	100,0	29	100,0	1622	100,0	272	100,0	2165	100,0

QN=quinine ; DdC=dose de charge ; ATB=antibiotique ; AV=atovaquone ; PG=proguanil ; MQ=méfloquine ; H=halofantrine ; CQ=chloroquine ; AM=artémether ; L=luméfantine ; AS=artésunate ; DX=Doxycycline ; Di=Dihydroartémisinine + pipéraquline ; P=Primaquine ; Ar=Artemether IM

### Prise en charge et traitement des accès palustres (2006-2014)

Les traitements prescrits après diagnostic de l'accès palustre en fonction de l'espèce confirmés par le CNR du Paludisme (n=16316) sont présentés dans le Tableau 29.

**Tableau 29.** Evolution dans le temps (2006-2014) de la prescription en traitement initial de *P. falciparum*.

Traitement initial	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	Total
Atovaquone-Proguanil	658	633	906	953	1059	833	854	926	971	7793
Quinine	1022	715	593	529	540	384	303	310	213	4609
Méfloquine	333	236	185	138	137	54	63	46	31	1223
Halofantrine	194	140	70	25	19	13	7	6	2	476
Chloroquine	11	10	7	5	10	4	3	5	6	61
Artéméther-luméfantrine	5	3	39	113	207	207	260	247	253	1334
DHA-Piperaquine	-	-	-	-	-	-	12	102	227	341
Artésunate IV	0	0	0	0	0	12	88	121	182	403
Primaquine									1	1
Autre et Inconnu	6	8	4	7	14	26	6	7	7	85
<b>Total</b>	<b>2229</b>	<b>1745</b>	<b>1804</b>	<b>1770</b>	<b>1986</b>	<b>1523</b>	<b>1596</b>	<b>1770</b>	<b>1893</b>	<b>16316</b>

Pour le traitement des accès palustres à *P. falciparum*, on constate la diminution des prescriptions d'halofantrine à partir de 2009, qui a en 2014, pratiquement disparue, et l'émergence des associations à base de dérivés de l'artémisinine : l'association artéméther-luméfantrine en 2008 et l'association dihydroartémisinine-pipéraquline en 2011 qui représentent en 2014, respectivement 13.4% et 12.0% des traitements de première intention. L'association atovaquone-proguanil reste le premier traitement (51,3% des cas). La prescription d'artésunate IV a progressé pour le traitement des accès graves en adéquation avec les nouvelles recommandations sanitaires de prescription de cette molécule en première intention dans les cas graves. La quinine reste le traitement de 11.2% des cas.

L'efficacité de ces traitements est détaillée ci-après.

**Tableau 30 :** Evolution dans le temps (2006-2014) de la prescription en traitement initial de *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae*.

Traitement initial	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	Total
Atovaquone-Proguanil	50	38	70	77	80	59	57	54	62	547
Quinine	134	105	74	48	44	46	21	14	12	498
Méfloquine	32	29	18	27	15	8	5	3	3	140
Halofantrine	16	7	10	2	2	1	1	1	0	40
Chloroquine	165	153	160	182	163	148	100	124	100	1295
Artéméther-luméfantrine	1	0	4	3	13	13	11	13	8	66
Artesunate									3	3
Primaquine									4	4
Dihydroartémisinine + pipéraquline									7	7
Autre et Inconnu	1	5	11	21	4	4	3	2	1	52
<b>Total</b>	<b>387</b>	<b>330</b>	<b>337</b>	<b>358</b>	<b>319</b>	<b>279</b>	<b>198</b>	<b>211</b>	<b>200</b>	<b>2619</b>

On constate que seuls 50,5% des cas sont traités par la chloroquine (Tableau 30) en traitement de première intention. Ces proportions varient peu selon les années (de 42 à 53%). L'atovaquone-proguanil est le deuxième traitement de première intention, la quinine, et les associations à base d'artémisinine occupant les 3<sup>ème</sup>, 4<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> places. Deux situations sont couramment rencontrées :

- un doute sur le diagnostic de l'espèce pour un microscopiste peu expérimenté (interne de garde, techniciens ou biologistes peu expérimentés) et le diagnostic de l'espèce est ultérieurement précisé par un biologiste spécialisé (parasitologue)
- la crainte du clinicien d'une association possible à un *P. falciparum* non détecté par le biologiste.

### **Efficacité thérapeutique 2014**

La classification de l'échec thérapeutique proposé par l'OMS et reprise par la Révision 2007 de la Conférence de Consensus 1999 pour la Prise en charge et prévention du paludisme d'importation à *Plasmodium falciparum* distingue trois types d'échecs :

- échec thérapeutique précoce (ETP) ;
- échec parasitologique tardif (EPT) ;
- échec clinique et parasitologique tardif (ECPT).

Pour cette analyse, l'échec thérapeutique précoce (ETP) est défini à J3 comme l'association d'une température  $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$  avec la présence de trophozoïtes ou de schizontes ; l'échec parasitologique tardif (EPT) comme une parasitémie positive entre J7 et J28 sans fièvre et l'échec clinique et parasitologique tardif (ECPT), de même mais avec une fièvre. La RCPA, réponse clinique et parasitologique adéquate est définie comme l'absence de parasitémie et des symptômes à J28.

Quelle que soit la population considérée, le suivi de l'efficacité thérapeutique est peu réalisé, particulièrement au-delà de J7. Un très faible nombre de prélèvements est positif à J28 dans l'ensemble des cas suivis, mais il n'est pas négligeable et expose à des risques d'accès graves car non diagnostiqués.

La présence de trophozoïtes lors du suivi J3-J4 est observée dans 15,8% des cas, tous traitements confondus (Tableau 31). Le suivi parasitologique pour la détection des échecs thérapeutiques précoces est peu réalisé (31.1% des cas) et seuls 17.1% des cas ont bénéficié d'un suivi tardif (J28 +/-2). Ces suivis ont permis de confirmer 16.8% (385 cas) de succès thérapeutique ; 18 échecs thérapeutiques précoces et 13 échecs thérapeutiques tardifs ont été diagnostiqués : ces cas sont décrits ci-après (Tableau 32).

**Tableau 31.** Efficacité thérapeutique jugée sur la présence de formes asexuées dans le sang lors des contrôles programmés à J3-J4 ; J7 +/-1 et J28 +/-2 pour la population totale.

	J3-J4		J7 +/-1		J28 +/-2	
	N	%	N	%	N	%
Stade asexué absent	721	31,4	628	27,3	385	16,8
Stade asexué présent	363	15,8	87	3,8	9	0,4
Inconnu ou non réalisé	1215	52,9	1584	68,9	1905	82,9
Total	2299	100,0	2299	100,0	2299	100,0

**Tableau 32.** Classification des évolutions cliniques et parasitologiques des accès palustres. Comparaison des cas déclarés avec les cas retenus pour l'analyse des résistances en fonction de l'évolution clinique et parasitologique des accès en 2014

	Total cas déclarés	
	N	%
RCPA	386	16,8
ETP	18	0,8
EPT	11	0,5
ECPT	2	0,1
Inconnu	1882	81,9
Total	2299	100

#### Efficacité thérapeutique des cas de *P. falciparum* en 2014

Si on ne considère parmi les patients ayant présenté un accès palustre à *P. falciparum*, que les 994 patients qui ont eu un suivi J3-J4, la présence de trophozoïtes est observée dans 26,7% des cas, dont 41,3% des sujets traités par l'association atovaquone-proguanil, et 16,5% des sujets traités par un autre traitement ( $p < 0.001$ ) ; plus particulièrement selon les traitements, 4,7% (6/128) des sujets traités par l'association artémether-luméfantrine et 5,8% (8/139) des patients traités par l'association dihydroartémisinine-pipéraquline avaient un prélèvement positif avec présence de trophozoïtes. Les prélèvements positifs J7 ont été observés sous différents traitements sans prédominance de l'un par rapport aux autres et les prélèvements positifs J28 ont été observés sous l'association atovaquone-proguanil (3 cas) et sous l'association artémether-luméfantrine (1 cas).

**Tableau 33.** Contrôle parasitologique des accès palustres à *P. falciparum* analysés pour l'année 2014 (n=2001).

	J3-J4		J7		J28	
	N	%	N	%	N	%
<b>Absence de parasite</b>	656	32,8%	568	28,4%	354	17,7%
<b>Présence de trophozoïtes</b>	265	13,2%	67	3,3%	7	0,3%
<b>Gamétocytes seuls</b>	60	3,0%	17	0,8%	2	0,1%
<b>Inconnu ou non réalisé</b>	1020	51,0%	1349	67,4%	1638	81,9%
<b>Total</b>	2001	100,0%	2001	100,0%	2001	100,0%

#### Suivi de l'efficacité thérapeutique des traitements par atovaquone-proguanil

En 2014, 971 accès à *P. falciparum* ont été traités en 1<sup>ère</sup> intention par l'atovaquone-proguanil en 87 ont été traités en 2<sup>ème</sup> intention par cette association. Seule l'efficacité des traitements de 1<sup>ère</sup> intention ont été détaillée par la suite : quand deux traitements au moins sont administrés, il est difficile de rapporter l'efficacité à l'un ou à l'autre des traitements d'autant que les protocoles suivis ne sont pas standardisés. Parmi les 971 accès considérés, 41,3% avaient une parasitémie résiduelle à J3-J4, le plus souvent faible et sans fièvre (165 des 407 contrôles). La guérison est rapportée pour 141 patients contrôlés entre J28 et J36 sans traitement de seconde attention. Dix patients (6,1% des contrôles J3-J4 positifs) présentant une parasitémie persistante à J3 ont reçu un second traitement par la quinine pour 8 d'entre-eux et par l'association artémether-luméfantrine pour 2 patients. Trois patients ont présentés un échec clinique et parasitologique à J28 notifié au CNR.

#### Description des échecs cliniques et parasitologiques tardifs à l'atovaquone-proguanil

Un échec clinique et parasitologique tardif après traitement par l'association atovaquone-proguanil a été rapporté au CNR pour six patients (dont 3 patients dont le suivi était incomplet dans la base du CNR du paludisme) et dont les observations sont rapportées ci-dessous.

**Patient 1.** Femme de 21 ans d'origine africaine et vivant en France depuis au moins 6 mois. Elle a voyagé 8 semaines en Guinée pendant l'été 2014 sans protection anti-moustique ni chimioprophylaxie. Les premiers symptômes apparaissent le 24/08/2014 (3 jours après son retour), et un accès simple sans vomissement à *P. falciparum* (parasitémie à 0,1%) est diagnostiqué le 29/08/2014 et traité le jour même par Malarone. Pas de contrôle J3, ni J7. Une rechute est observée le 20/09/2014 (J22 ; parasitémie à *P. falciparum* : 1%). Une mauvaise observance lors du traitement de la primo-infection est suspectée et la patiente est traitée à nouveau par Malarone.

#### Analyse moléculaire, dosages plasmatiques, phénotypes *in vitro* :

- isolat J0 : génotype cytb 268 sauvage (Y268, tyrosine), génotype *dhfr* triple mutant 51, 59,108 (IRN), cycloguanil et proguanil détectés dans le plasma;
- isolat J22 (échec) : génotype cytb 268 mutant (Y268C, cystéine)

**Conclusion :** Echec échec tardif du traitement à la Malarone par résistance parasitaire moléculaire à l'atovaquone et au cycloguanil. L'absence de résistance à l'atovaquone chez l'isolat J0 suggère une résistance acquise au cours du traitement.

**Patient 2.** Petite fille de 4 ans, 19 kg, d'origine africaine et vivant en France depuis au moins 6 mois. Elle a voyagé 7 semaines au Mali et en Côte d'Ivoire pendant l'été 2014 sous chimioprophylaxie atovaquone-proguanil arrêtée prématurément. Les premiers symptômes (fièvres récurrentes) apparaissent le 27/08/2014 (4 semaines après son retour), et un accès simple avec fièvres, vomissements, céphalées, douleurs abdominales est diagnostiqué le 29/08/2014 (espèce : *P. falciparum* ; parasitémie à 0,6%) et traité le jour même par atovaquone-proguanil (1 cp/j x 3j ; les 2 premières doses à l'hôpital, la 3<sup>ème</sup> en ambulatoire). Contrôle J7 (05/09/2014) : pas de parasites détectés. Une rechute est observée le 26/09/2014 (J28 ; parasitémie à *P. falciparum* : 0,03%). La patiente est traitée par halofantrine. Contrôles J11 post-rechute et J28 post-rechute (07/10/2014 et 28/10/2014) : pas de trophozoïtes détectés.

Analyse moléculaire, dosages plasmatiques, phénotypes *in vitro* :

- isolat J0 : génotype cytb 268 sauvage (Y268, tyrosine), génotype *dhfr* triple mutant 51, 59,108 (IRN);
- isolat J39 (échec) : génotype cytb 268 mutant (Y268C, cystéine)

Conclusion : Echec échec tardif du traitement à la Malarone par résistance parasitaire moléculaire à l'atovaquone et au cycloguanil. L'absence de résistance à l'atovaquone chez l'isolat J0 suggère une résistance acquise au cours du traitement.

**Patient 3.** Petit garçon de 4 ans, d'origine africaine, né et vivant en France. Il a voyagé (durée indéterminée) en Côte d'Ivoire, retour le 10/09/2014, sans chimioprophylaxie. Un premier accès palustre est diagnostiqué (espèce : *P. falciparum* ; parasitémie à 2%) et a été traité par atovaquone-proguanil (manque d'informations sur ce traitement). Contrôle J2 (12/09/2014) : *P. falciparum* à 3%. Contrôle J6 (16/09/2014) : pas de parasites détectés. Une rechute (accès simple sans vomissement) est diagnostiquée 26 jours plus tard, le 7/10/2014 (espèce : *P. falciparum* ; parasitémie à 2%) et traité le jour même par dihydroartémisinine + pipéraquline. Contrôles J7 (14/10/2014) et J26 (04/11/2014) du second traitement : pas de parasites détectés.

Analyse moléculaire, dosages plasmatiques, phénotypes *in vitro* :

- isolat J0 : pas d'échantillon disponible (en attente des lames) ;
- isolat J26 (échec) : génotype cytb 268 mutant (Y268S, sérine), résistance *in vitro* à l'atovaquone (CI50% = 29 µM, soit environ 4 log au-dessus de la moyenne des sensibles)

Conclusion : Echec échec tardif du traitement à l'atovaquone-proguanil par résistance parasitaire moléculaire et phénotypique à l'atovaquone. L'absence d'isolat parasitaire pour le diagnostic initial ne nous permet pas de conclure si la résistance était présente initialement ou si elle a été acquise au cours du traitement.

**Patient 4.** Homme de 60 ans, d'origine africaine, né au Cameroun et vivant en France. Il a voyagé 8 semaines au Cameroun, retour le 02/10/2014, sous chimioprophylaxie méfloquine arrêtée prématurément pour intolérance. Un premier accès palustre **pour lequel nous avons très peu d'informations** a été traité **probablement** par atovaquone-proguanil (dernière prise le 20/10/2014). Une rechute (accès simple sans vomissement, fièvre chronique depuis 20 jours, arthralgie/myalgie) est diagnostiquée 26 jours plus tard, le 17/11/2014 (espèce : *P. falciparum* ; parasitémie à 0,3%) et traité en ambulatoire le jour même par artémether-luméfantrine. Contrôles J3 (pas de parasites détectés), J7 (présence de trophozoïtes). Pas d'autres informations sur le suivi de ce patient.

Analyse moléculaire, dosages plasmatiques, phénotypes *in vitro* :

- isolat J0 : pas d'échantillon disponible;
- isolat J26 (échec) : génotype cytb 268 mutant (Y268S, sérine)

Conclusion : Echec échec tardif du traitement à la Malarone par résistance parasitaire moléculaire à l'atovaquone. L'absence d'isolat parasitaire pour le diagnostic initial ne nous permet pas de conclure si la résistance était présente initialement ou si elle a été acquise au cours du traitement.

**Patient 5.** Femme enceinte de 29 ans, d'origine africaine, née en Côte d'Ivoire et vivant en France. Elle a voyagé 2 semaines en Côte d'Ivoire, retour le 28/02/2014, sans chimioprophylaxie. Un accès palustre simple sans vomissement est diagnostiqué un mois après le retour, le 02/04/2014 (espèce : *P. falciparum* ; parasitémie à 0,3%). La patiente est hospitalisée et traitée par atovaquone-proguanil (4 cp adultes/j x 3j). Contrôle J3, parasitémie 0,1%. Une rechute est diagnostiquée 26 jours plus tard, le 29/04/2014 (espèce : *P. falciparum* ; parasitémie à 0,3%) et traité en ambulatoire le jour même par artémether-luméfantrine. Contrôle J6 (03/05/2014 ; pas de parasites détectés). Pas d'autres informations sur le suivi de cette patiente.

Analyse moléculaire, dosages plasmatiques, phénotypes *in vitro* :

- isolat J0 : génotype cytb 268 sauvage (Y268, tyrosine), génotype *dhfr* triple mutant 51, 59,108 (IRN); pas d'antipaludiques détectés dans le plasma



- isolat J27 (échec) : génotype cytb 268 sauvage (Y268, tyrosine), génotype *dhfr* triple mutant 51, 59,108 (IRN)

Conclusion : Echec échec tardif du traitement atovaquone-proguanil, avec résistance au cycloguanil mais pas de mutation de résistance classique à l'atovaquone (codon cytb 268). Une analyse complémentaire sera menée pour rechercher d'autres mutations éventuellement impliquées dans la résistance à l'atovaquone, et vérifier si l'observance du premier traitement par atovaquone-proguanil était correcte.

**Patient 6.** Homme de 28 ans, d'origine caucasienne, né en Polynésie française et vivant en France depuis au moins 6 mois. Il a voyagé 10 semaines en Centrafrique (militaire), retour le 12/10/2014, sous chimioprophylaxie par doxycycline correctement suivie. Les premiers symptômes (fièvres) apparaissent le 19/10/2014. Un accès palustre simple sans vomissement (fièvres, céphalées, arthralgies et/ou myalgies) est diagnostiqué le 23/10/2014 (espèce : *P. falciparum* ; parasitémie à 1,5%). Le patient est hospitalisé et traité par atovaquone-proguanil (4 cp adultes/j x 3j). Contrôle J2 (25/10/2014), fièvre et présence de rares trophozoïtes. Contrôle J6 (29/10/2014), absence de fièvre et de parasites (frottis). Une rechute est diagnostiquée 33 jours plus tard, le 25/11/2014 (espèce : *P. falciparum*). Pas d'informations sur le traitement. Contrôle le 10/12/2014 en laboratoire privé prescrit par le médecin militaire : pas de parasites détectés.

Analyse moléculaire, dosages plasmatiques, phénotypes in vitro :

- isolat J0 : génotype cytb 268 sauvage (Y268, tyrosine), génotype *dhfr* (génotypage en cours)

- pas d'échantillon J33 (échec).

Conclusion : Echec tardif du traitement atovaquone-proguanil. Pas de preuve d'une résistance à l'atovaquone car nous n'avons pas eu l'échantillon correspondant à l'échec.

#### *Suivi de l'efficacité thérapeutique des traitements par quinine*

Au total en 2014, 214 cas de *P. falciparum* ont été traités par la quinine en 1<sup>ère</sup> intention, dont 73 par une monothérapie. La clairance est lente avec 24,2% (de persistances de parasites à J3. Il n'est pas possible d'identifier les échecs précoces en raison de la variabilité des doses et des modalités de prise. Aucun échec tardif n'a été identifié.

#### *Suivi de l'efficacité thérapeutique des traitements par méfloquine*

Au total en 2014, 31 cas de de *P. falciparum* ont été traités par la méfloquine en 1<sup>ère</sup> intention, dont 27 par une monothérapie. Parmi les patients suivis, la persistance de parasites à J3 est observée pour 26,7% d'entre-eux (4/15), il n'y a pas de persistance des parasites au-delà de J7. Aucun échec tardif n'a été détecté.

#### *Suivi de l'efficacité thérapeutique des traitements par artéméther-luméfántrine*

Au total en 2014, 253 cas de de *P. falciparum* ont été traités par l'artéméther-luméfántrine en 1<sup>ère</sup> intention, dont 253 par cette seule bithérapie. Parmi les patients suivis, la persistance de parasites à J3 est observée pour 4,7% d'entre-eux (6/128) : aucun n'a été retraité et aucun n'a eu de rechute dans les 4 semaines suivantes ou n'ont pas été suivis. Ces patients avaient déclaré un accès palustre au retour de différents pays du continent africain (Cote d'Ivoire, Congo, République Centrafricaine). Les parasitémies à J3 étaient très faibles, les suivis J7 et J28 étaient négatifs quand ils ont été réalisés. Un échec tardif a été identifié qui a été traité avec succès par l'atovaquone-proguanil.

#### *Suivi de l'efficacité thérapeutique des traitements par l'association dihydroartémisinine-pipéraquline*

Au total en 2014, 227 cas de de *P. falciparum* ont été traités par l'association dihydroartémisinine-pipéraquline en 1<sup>ère</sup> intention, dont 223 par cette seule bithérapie. Parmi les patients suivis, la persistance de parasites à J3 est observée pour 5,8% d'entre-eux (8/139) : aucun n'a été retraité et aucun n'a eu de rechute dans les 4 semaines suivantes ou n'ont pas été suivis. Ces patients avaient déclaré un accès palustre au retour de différents pays du continent africain (Cote d'Ivoire, Congo, République Centrafricaine). Les parasitémies à J3 étaient très faibles, les suivis J7 et J28 étaient négatifs quand ils ont été réalisés.

#### *Suivi de l'efficacité thérapeutique des traitements par la chloroquine*

Les traitements par chloroquine des accès palustres à *P. falciparum* sont en nombre très réduits : 6 en 2014. Trois patients ont eu une deuxième ligne de traitement par un autre antipaludique, et les trois autres patients ont été traités avec succès : ils revenaient du Mali (1), du Burkina-Faso (1), et d'Haïti (1).

#### *Suivi de l'efficacité thérapeutique des traitements par l'halofantrine*

Les traitements par halofantrine sont limités (2 en 2014) ; ils n'ont pas été à l'origine d'échec tardif rapporté.

#### Efficacité thérapeutique des cas non *P. falciparum* en 2014

Les traitements des accès dus à une espèce différente de *P. falciparum* bénéficient rarement d'un suivi de l'efficacité thérapeutique. Les traitements par la méfloquine sont en nombre réduits. Vingt-six traitements radicaux par la primaquine ont fait l'objet d'une notification dans la base (18 accès à *P. ovale* et 9 accès à *P. vivax*).

#### *Efficacité des traitements par la chloroquine*

Au total en 2014, seuls 49 cas sur les 140 ont traités par la chloroquine ont bénéficié d'un suivi thérapeutique : la guérison est rapportée dans 43,2% (54/125) des cas mais elle n'est objectivée à J28 que pour 7 cas. En particulier, il n'est pas noté d'inefficacité de la chloroquine dans le traitement des accès à *P. vivax*.

#### *Efficacité des traitements par l'atovaquone-proguanil*

Pour toutes les espèces autres que *P. falciparum* confondues, la guérison est rapportée dans 29,4% (25/85) des cas traités par l'association atovaquone-proguanil seule ou relayée par la chloroquine.

#### *Efficacité des traitements par la quinine*

Les traitements de 1<sup>ère</sup> intention par la quinine sont relayés dans 50,0% (9/18) des cas par un autre traitement, la chloroquine ou l'atovaquone-proguanil. La guérison est rapportée dans 10 cas (55,6%).

#### *Efficacité des traitements par l'artéméther-luméfantrine*

Pour toutes les espèces autres que *P. falciparum* confondues, la guérison est rapportée dans 18,2% (2/11) des cas traités par l'association artéméther-luméfantrine seule ou relayée par la chloroquine.

#### *Efficacité des traitements par l'association dihydroartémisinine-pipéraquline*

Pour toutes les espèces autres que *P. falciparum* confondues, la guérison est rapportée dans 44,5% (4/9) des cas traités par l'association dihydroartémisinine-pipéraquline seule ou relayée par la chloroquine.

## **3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques du paludisme en zone d'endémie – Pôle Antilles Guyane**

### **3.2.1 Définition des isolats collectés**

Du fait de la répartition géographique des partenaires du LA-AG, deux méthodes de prélèvement sont utilisées pour transmettre les prélèvements contenant des plasmodies au LA-AG :

✓ le **prélèvement de sang veineux sur tube EDTA** pour les centres disposant d'une liaison qui permet l'acheminement des échantillons au LA-AG dans les quatre jours suivant le prélèvement ;

✓ le **prélèvement de sang capillaire** au bout du doigt recueilli **sur papier buvard**. Ce type de prélèvement ne permet pas la mise en œuvre d'un test de chimiosensibilité ou l'adaptation à la multiplication *in vitro* des parasites puisque ces derniers sont morts, fixés sur le papier buvard. Il permet cependant les analyses génotypiques plusieurs semaines voire plusieurs mois après le prélèvement.

### 3.2.2 Contribution à la surveillance en interface avec l'InVS et l'ARS Guyane

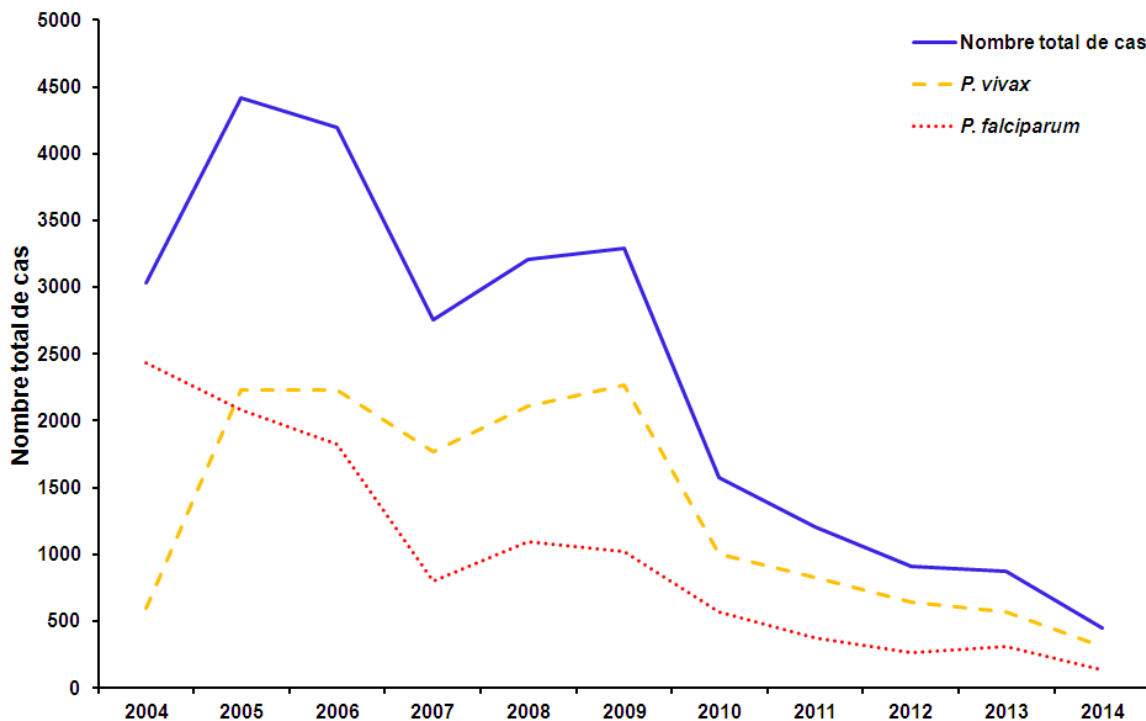
Les interactions InVS/LA-AG s'effectuent par l'intermédiaire de son bureau délocalisé en région, la Cire Antilles-Guyane. Les membres de la Cire sont en charge du recueil exhaustif des données épidémiologiques concernant les cas de paludisme diagnostiqués en Guyane dans l'ensemble des centres de diagnostic à savoir : CDPS, LBM et hôpitaux. Cette mission de recueil est assurée par une équipe composée de membre de la Cire AG et de l'ARS au sein de la Plateforme de Veille, d'Alerte et de Gestion Sanitaire (PVAGS). Cette plateforme fait suite à la création des agences régionales de santé en 2010. Elle a repris les missions de l'ancienne cellule de veille sanitaire. Elle a pour vocation d'assurer un dispositif de qualité de réception et de traitement des signaux par des équipes pluridisciplinaires intra ou extra institutionnelles, avec un appui permanent et la mobilisation des compétences d'évaluation et d'investigation de l'InVS. Ses missions reposent spécifiquement sur des activités de surveillance, d'investigations épidémiologiques, d'évaluation de risque et de coordination de la gestion. Ainsi, toutes les observations inhabituelles (résistance, foyer épidémique important...) font l'objet d'un signalement de la part du LA-AG auprès de la PVAGS selon des modalités bien définies (cf § Alerte). Concernant le paludisme en Guyane, la déclaration hebdomadaire à la PVAGS des cas diagnostiqués fait office de déclaration obligatoire.

Régulièrement, la Cire AG publie une analyse des données épidémiologiques collectées en Guyane et aux Antilles sous forme d'un Point Epidémiologique Périodique (PEP) ou, annuellement dans le Bulletin de Veille Sanitaire (BVS).

### 3.2.3 Distribution des cas de paludisme en Guyane

En Guyane, les zones de transmission du paludisme sont essentiellement localisées le long des fleuves à proximité des zones d'orpaillage (Maroni, Mana, Approuague et Oyapock). Cependant, quelques foyers de transmission sporadiques subsistent sur le littoral (Matoury, Kourou, Montsinéery).

Selon les données de la Cire Antilles-Guyane, le nombre de cas de paludisme déclarés en Guyane en 2014 est en très nette diminution par rapport à 2013 (-51%, Figure 17). L'année 2014 est toujours marquée par un très grand nombre de cas recensés à Maripa Soula venant exclusivement de zone forestières orpaillées puisqu'aucune transmission dans le bourg n'a été identifiée par la Cire lors des investigations qu'elle a menée. Pour une présentation plus détaillée de données relatives à l'endémie palustre guyanaise, se référer aux publications de la Cire Antilles-Guyane accessibles en ligne sur le site de l'InVS ([www.invs.fr](http://www.invs.fr)).



(Source ARS/Cire-AG).

**Figure 17.** Evolution du nombre de cas déclarés de paludisme en Guyane entre 2004 et 2014.

*Remarque :* Les diagnostics réalisés dans certains Centre et/ou Poste de Santé ne permettent pas de différencier les infections à *P. vivax* des infections à *P. malariae*. Pour l'analyse des données, aux vues de l'épidémiologie du paludisme en Guyane, les infections notées "autre espèce que *P. falciparum*" ont été analysées comme des infections à *P. vivax*.

### 3.2.4 Patients hospitalisés pour paludisme en Guyane

Cette surveillance est effectuée par une infirmière de la PVAGS sous la responsabilité de l'infectiologue du CHC qui a pour mission de classer les cas selon les recommandations de l'OMS. Le paragraphe ci-dessous reprend donc les données de l'ARS de façon à donner une image générale du paludisme grave en Guyane mais ne relève pas de la mission propre au CNR Paludisme.

En 2014, 57 patients ont été hospitalisés pour paludisme (33 au CHC, 16 au CH de St Laurent du Maroni et 8 au Centre Médico-Chirurgical de Kourou). Huit patients ont présenté des signes d'accès grave à *P. falciparum* ou *P. vivax* parmi lesquels six ont nécessité un séjour en réanimation. Aucun décès n'a été recensé (Figure 18).

Le nombre de patients hospitalisés en 2014 est en nette diminution et suit la tendance globale du nombre de cas recensés. Par contre, le nombre de cas étiquetés comme grave est resté stable sans aucun décès associé.

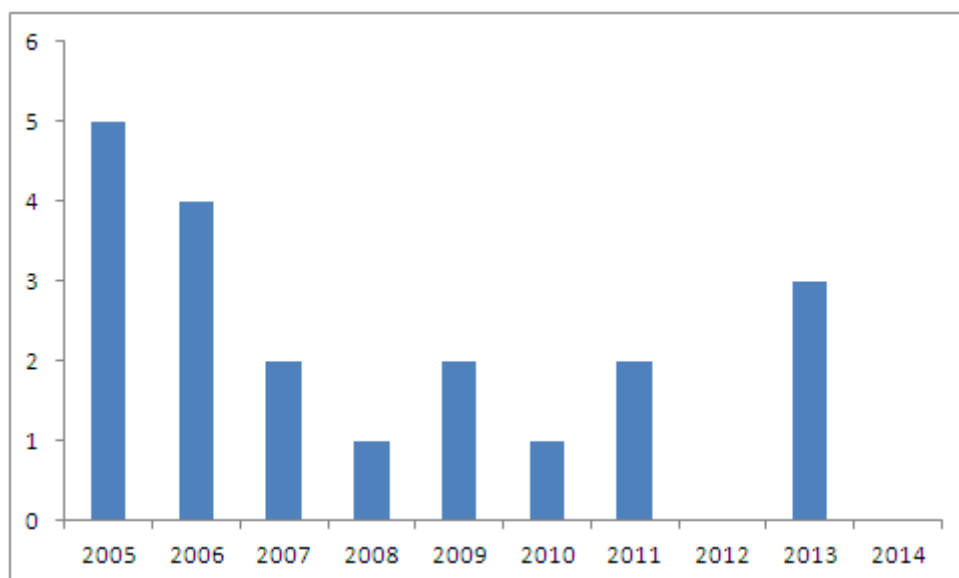


Figure 18. Evolution du nombre de décès liés au paludisme en Guyane entre 2005 et 2014.

### 3.2.5 Distribution des cas de paludisme aux Antilles

Ces données sont publiées régulièrement par la Cire dans le BVS. Le dernier en date est accessible à l'adresse suivante : [http://www.invs.sante.fr/pmb/invs/%28id%29/PMB\\_10809](http://www.invs.sante.fr/pmb/invs/%28id%29/PMB_10809). En Guadeloupe, environ dix cas importés en provenance d'Afrique de l'Ouest, de Guyane et d'Haïti sont recensés chaque année. En Martinique, une quinzaine de cas sont recensés provenant des mêmes régions qu'en Guadeloupe.

## 3.3 Surveillance de la résistance de *P. falciparum* aux antipaludiques

### 3.3.1 Surveillances de la sensibilité des isolats importés de *P. falciparum* – Pôle métropole

#### 3.3.1.1 Analyse des phénotypes : chimiosensibilité *in vitro* 2014

##### Définition de l'échantillon de souches testées

En 2014, 2017 isolats de *Plasmodium falciparum* ont été réceptionnés au CNR Paludisme. Seuls, 466 tests *in vitro* de chimiosensibilité (soit 23.1% des isolats à *P. falciparum*) ont été effectués avec un pourcentage de succès de la méthode de 86,5% sur au moins un antipaludique. L'analyse porte sur la totalité de ces isolats car très peu ont été soumis à une pression médicamenteuse par auto-traitement ou par chimioprophylaxie avant prélèvement (confirmation par dosage plasmatique).

Trois cent trente  $CI_{50}$  ont été obtenues par incorporation d'hypoxanthine tritiée. Soixante-treize  $CI_{50}$  ont été obtenus à l'aide d'un test ELISA (HRP2). Le fait que le test soit réalisé jusqu'à quatre jours suivant le prélèvement explique certains de ces échecs (absence de croissance dans 12,9% des tests sur l'ensemble des molécules testées).

La chimiosensibilité à 10 molécules (Chloroquine, Monodesethylamodiaquine Quinine, Mefloquine, Luméfantrine, Atovaquone, Dihydroartémisinine, Pyronaridine, Pipéraquline, Doxycycline) a pu être déterminée.

##### Définition des isolats résistants

A l'exception de la chloroquine et de l'atovaquone, il n'y a pas de seuils de résistance définis pour les autres antipaludiques. En cas d'observation d'une  $CI_{50}$  plus élevée que les valeurs attendues, on utilisera le terme de diminution de la sensibilité.

Les **seuils de résistance**, corrélés avec les données *in vivo* ou génomiques, sont :

- 100nM pour la chloroquine (Dedet *et al.*, 1988),

- 400nM pour l'atovaquone (Savini *et al.*, 2008).

Pour ces deux molécules, nous utiliserons le terme d'isolat résistant lorsque les valeurs de  $CI_{50}$  observées seront supérieures au seuil.

Les **seuils de diminution de sensibilité** consensus et propres à chacune des molécules sont rappelés avec les résultats observés.

### Présentation des résultats

Les valeurs des  $CI_{50}$  sont présentées dans les figures ci-dessous pour chaque molécule testée sous forme de boîtes à moustaches de Tukey qui représentent la distribution des valeurs. Ces boîtes sont construites de la manière suivante :

- La boîte est délimitée par la valeur du 1<sup>er</sup> quartile ( $Q_1$ ) de la distribution pour le trait inférieur et celle du 3<sup>ème</sup> quartile ( $Q_3$ ) pour le trait supérieur. La boîte contient donc 50% des valeurs. La médiane est représentée par un trait à l'intérieur de la boîte qui délimite l'espace interquartile,
- La longueur des moustaches est définie par deux valeurs :
  - La frontière basse qui est la valeur minimum dans les données qui est supérieure à :  $Q_1 - 1,5 \times (Q_3 - Q_1)$ ,
  - La frontière haute qui est la valeur maximum dans les données qui est inférieure à :  $Q_3 + 1,5 \times (Q_3 - Q_1)$ ,
- Les valeurs situées au-delà des moustaches sont individualisées à l'aide d'un point. Elles représentent des valeurs normalement considérées comme "outliers". Dans notre cas, elles pourraient correspondre à des isolats résistants ou de sensibilité diminuée.

Les logiciels Stata<sup>®</sup> 12 (Statacorp) et Excel<sup>®</sup> (Microsoft) ont été utilisés pour générer ces graphiques.

## 1. Antipaludiques conventionnels

### a. Chloroquine

Trois cent quatre-vingt-seize isolats ont pu être analysés (23 échecs) en 2014. Vingt-neuf isolats sur 396 sont résistants *in vitro* (7,32%). Sur les 4 ans analysés, les isolats présentent majoritairement un phénotype sensible à la chloroquine (2010 : 70,9%, 2011 : 66,3%, 2012 : 79,7%, 2013 : 86,7%, **2014 : 92,7% ( $P < 0,0001$ )**). (Figure 19).

Seuls les isolats analysés provenant du Gabon et de la Côte d'Ivoire ont montré plus de 20% de résistance à la chloroquine (Figure 20).

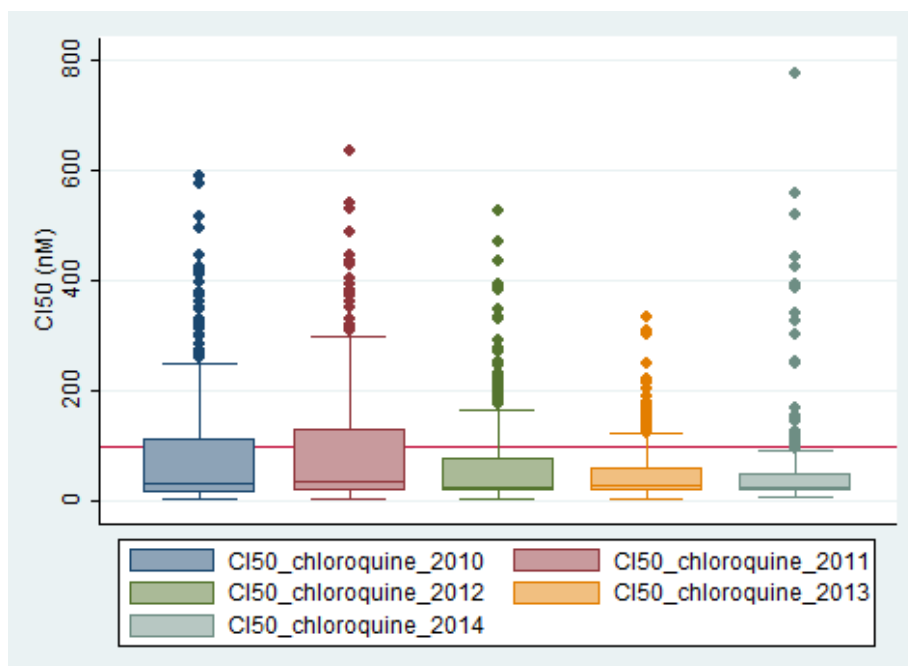


Figure 19 : Evolution des chimiosensibilités à la chloroquine entre 2010 et 2014  
 2010 n : 517 ; 2011 n : 297 ; 2012 n : 311 ; 2013 n : 375 ; 2014 n : 396.  
 La ligne rouge représente le seuil de résistance à 100 nM (Dedet *et al.*, 1988).

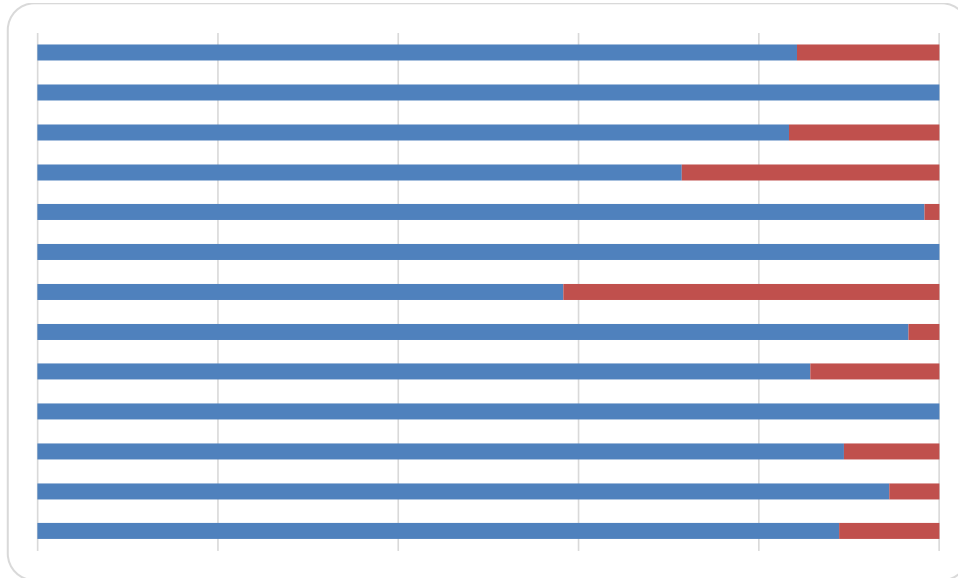


Figure 20 Répartition des échantillons chloroquino-résistants en fonction du pays d'endémie

Bénin n : 9 ; Burkina Faso n : 18 ; Cameroun n : 66 ; Centrafrique n : 22 ; Congo n : 14 ; Côte d'Ivoire n : 116 ; Gabon n : 12 ; Guinée n : 19 ; Mali n : 60 ; Nigéria n : 7 ; Sénégal n : 6 ; Tchad n : 5 ; Togo n : 19

### b. Quinine

Nous avons disposé de 389 résultats de  $CI_{50}$ , seuls 6 isolats (1.5%,  $P < 0,0001$ ) ont présenté des  $CI_{50} > 500$  nM en 2014 (Figure 21) originaires de République Centrafricaine, Togo, Cameroun, Burkina Faso.

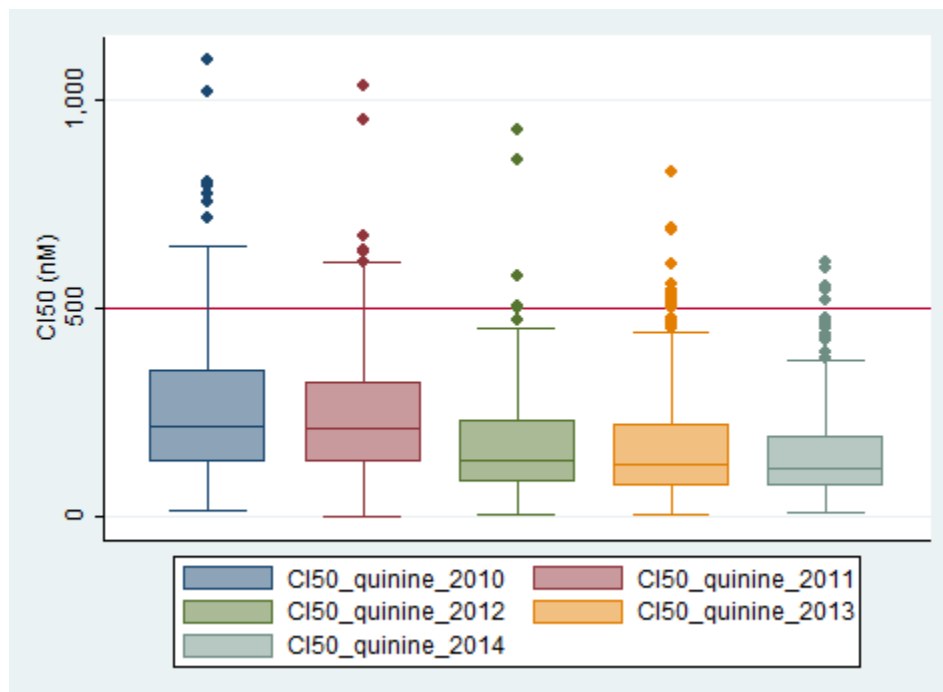


Figure 21 Evolution des chimiosensibilités à la quinine entre 2010 et 2014  
2010 n : 226 ; 2011 n : 153 ; 2012 n : 266 ; 2013 n : 367 ; 2014 n : 389.

La ligne rouge représente le seuil de résistance à 500 nM (Basco and Le Bras, 1994).

### c. Atovaquone

Vingt-quatre échantillons ont été analysés en 2014 : les isolats ne sont pas étudiés en systématique vis-à-vis de cette molécule, mais en fonction du contexte, la détection de la mutation sur le gène *pfcytb* associée à la résistance à l'atovaquone étant aussi informative. Les  $CI_{50}$  ont été comprises entre 0,25 et

25,4 nM (Figure 22). Par conséquent, aucun isolat testé à J0 n'a montré une sensibilité diminuée à l'atovaquone, c'est-à-dire  $CI_{50} > 400$  nM (seuil de référence).

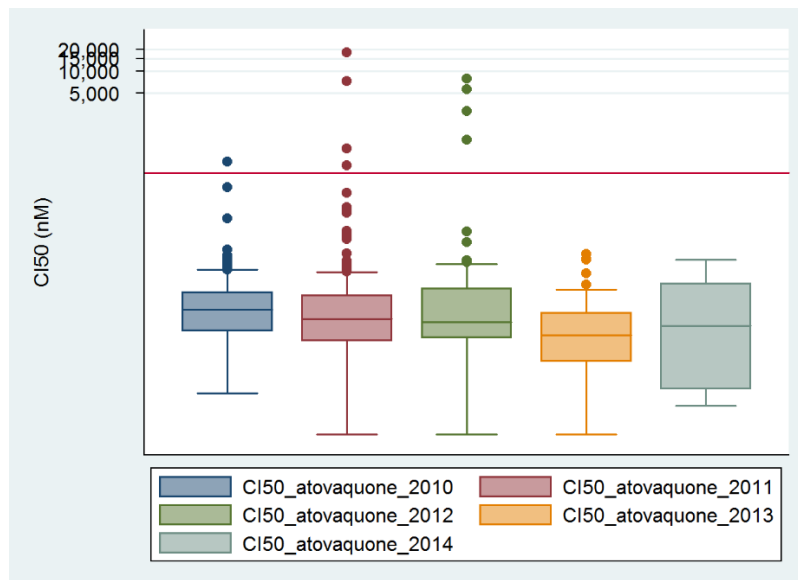


Figure 22 Evolution des chimiosensibilités à l'atovaquone entre 2010 et 2014  
 2010 n : 219 ; 2011 n : 183 ; 2012 n : 94 ; 2013 n : 62 ; 2014 n : 24.  
 La ligne rouge représente le seuil de résistance à 400 nM (Savini et al., 2008).

#### d. Doxycycline

Les 337 isolats ont montré une  $CI_{50}$  comprise entre 1,2 et 56,4 nM en 2014. Vingt-deux échantillons (6,5%) présentent une  $CI_{50}$  supérieure au seuil de résistance (35 nM) soit une augmentation d'un facteur 2 par rapport à 2013 (Figure 23). Ces isolats provenaient essentiellement du Gabon et de République Centrafricaine.

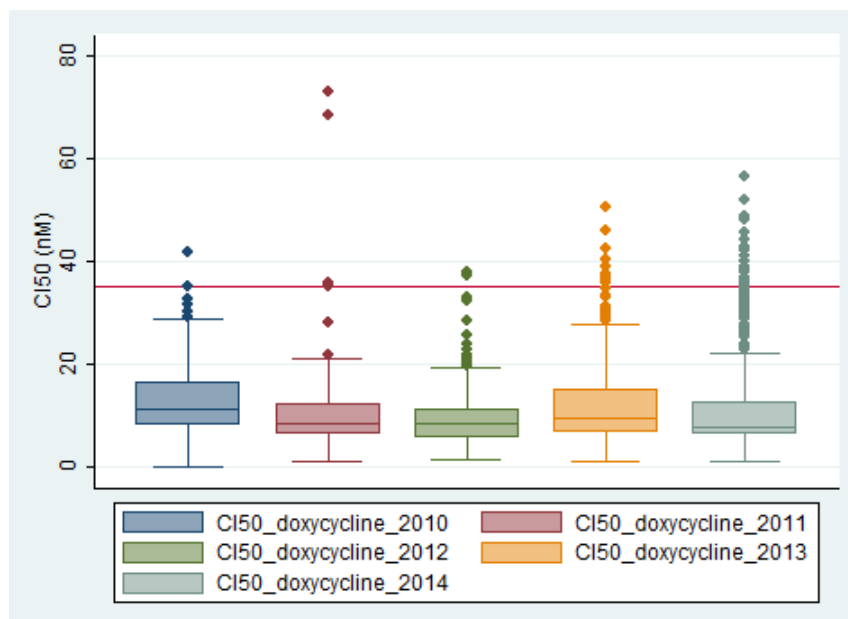


Figure 23 Evolution des chimiosensibilités à la doxycycline entre 2010 et 2014  
 2010 n : 194 ; 2011 n : 130 ; 2012 n : 296 ; 2013 n : 304 ; 2014 n : 337.  
 La ligne rouge représente le seuil de résistance à 35nM (Briolant et al., 2009).



## 2. Les dérivés d'artémisinine

### a. La dihydroartémisinine

Trois cent quatre-vingt-quinze isolats ont été analysés en 2014 vis-à-vis de la dihydroartémisinine, métabolite actif des dérivés de l'artémisinine. 26 isolats ont présentés une  $CI_{50}$  intermédiaire comprises entre 4 et 6 nM et 3 isolats (en provenance du Cameroun, de République Centrafricaine et du Togo), une  $CI_{50} > 12$  nM (0,76 %) (valeur la plus élevée : 14,5 nM) (Figure 24).

Ces  $CI_{50}$  augmentées ne sont pas à ce jour associées à une inefficacité clinique des CTA, combinaisons thérapeutiques, à base d'artémisinine.

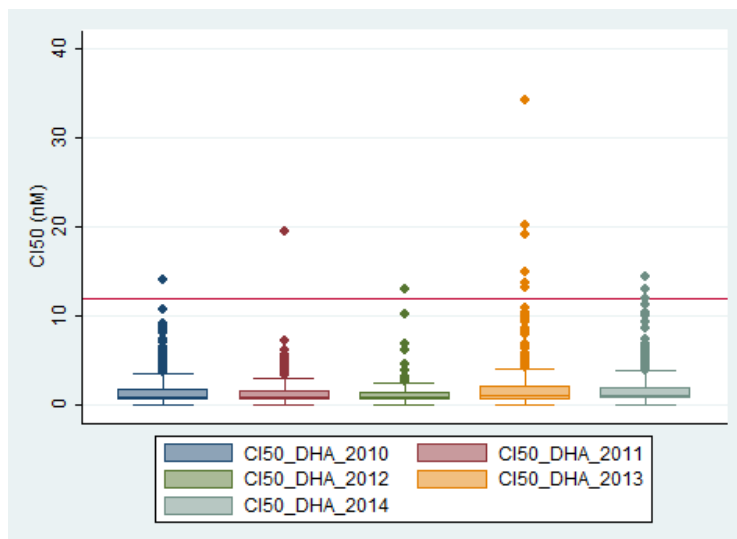


Figure 24 Evolution des chimiosensibilités à la dihydroartémisinine entre 2010 et 2014  
2010 n : 510 ; 2011 n : 242 ; 2012 n : 312 ; 2013 n : 346 ; 2014 n : 395.

La ligne rouge représente le seuil de résistance à 12 nM (Basco & Le Bras, 1993).

## 3. Les molécules associées aux ACTs

### a. Mono déséthylamodiaquine

Trois cent quatre-vingt-quinze isolats ont pu être analysés. Trente-quatre isolats ont présenté une  $CI_{50} > 60$  nM (Figure 25) : ils avaient été contractés au Gabon, Bénin, Congo et Cameroun.

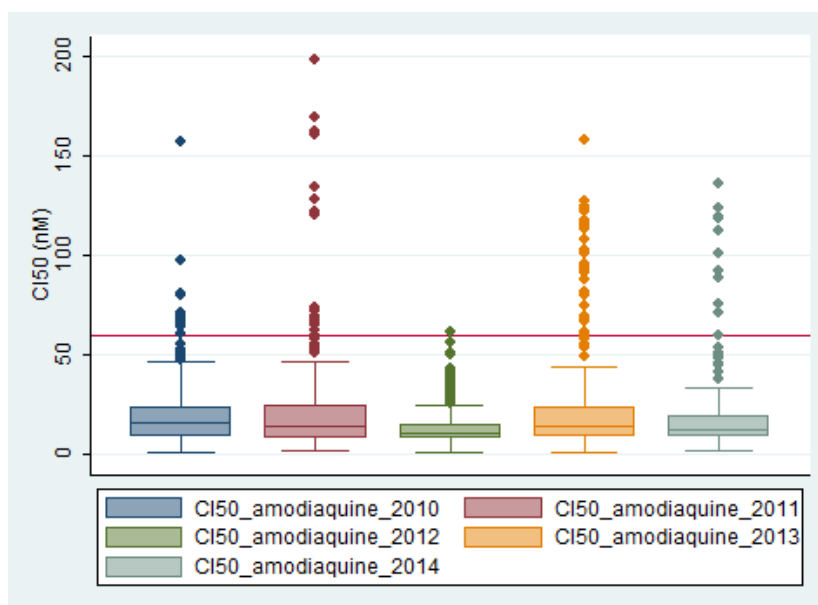


Figure 25 Evolution des chimiosensibilités à la Mono déséthylamodiaquine entre 2010 et 2014  
2010 n : 503 ; 2011 n : 295 ; 2012 n : 318 ; 2013 n : 313 ; 2014 n : 395.

La ligne rouge représente le seuil de résistance de 60 nM (Ringwald et al., 1998).

### b. Luméfantrine

Trois cent quatre-vingt-huit isolats ont pu être analysés. Un isolat provenant de Cote d'Ivoire a montré une  $CI_{50}$  intermédiaire comprise entre 100 et 150 nM et aucun isolat n'a présenté une  $CI_{50}$  supérieure au seuil de 150 nM (Figure 26).

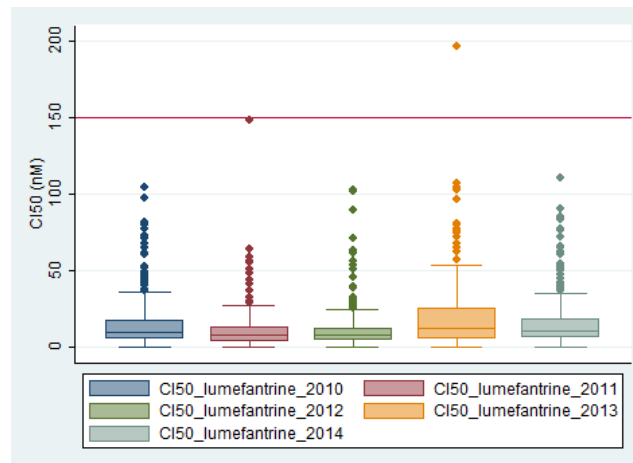


Figure 26 Evolution des chimiosensibilités à la luméfantrine entre 2010 et 2014  
2010 n : 485 ; 2011 n : 214 ; 2012 n : 217 ; 2013 n : 348 ; 2014 n : 388.  
La ligne rouge représente le seuil de résistance à 150 nM (Pradines et al., 1999).

### c. Pipéraquline

Trois cent quatre-vingt isolats ont été analysés. Les  $CI_{50}$  ont été comprises entre 1,9 nM et 191,7 nM. Vingt-neuf des 380 isolats (7,6%) ont montré une  $CI_{50} > 80$  nM (Figure 27) contre 5,5% des isolats en 2013. Depuis 2015, le seuil de résistance a été fixé à 135 nM ; 5 isolats ont montré une  $CI_{50} > 135$  nM (soit 1.32% contre 0.87% en 2013) en provenance du Gabon, de République Centrafricaine et du Cameroun.

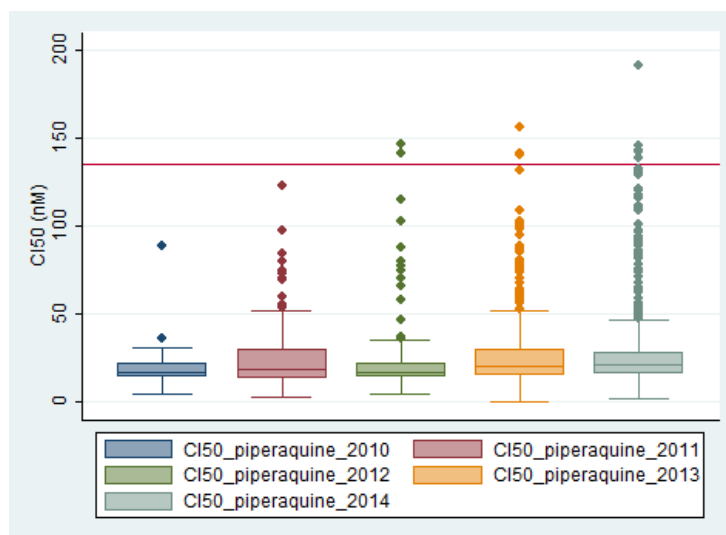


Figure 27 Evolution des chimiosensibilités à la pipéraquline entre 2010 et 2014  
2010 n : 41 ; 2011 n : 103 ; 2012 n : 256 ; 2013 n : 344 ; 2014 n : 380.  
La ligne rouge représente le seuil de résistance à 135 nM (Pascual et al, 2015).

### d. Méfloquine

Trois cent quatre-vingt-douze échantillons ont été analysés. Cent vingt-cinq échantillons ont montré une  $CI_{50} > 40$  nM (31,8% contre 12,6% en 2013) (Figure 28). Ces isolats présentant des diminutions de sensibilité à la méfloquine provenaient principalement de République Centrafricaine, du Ghana, du Gabon, du Nigéria et du Togo (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**).

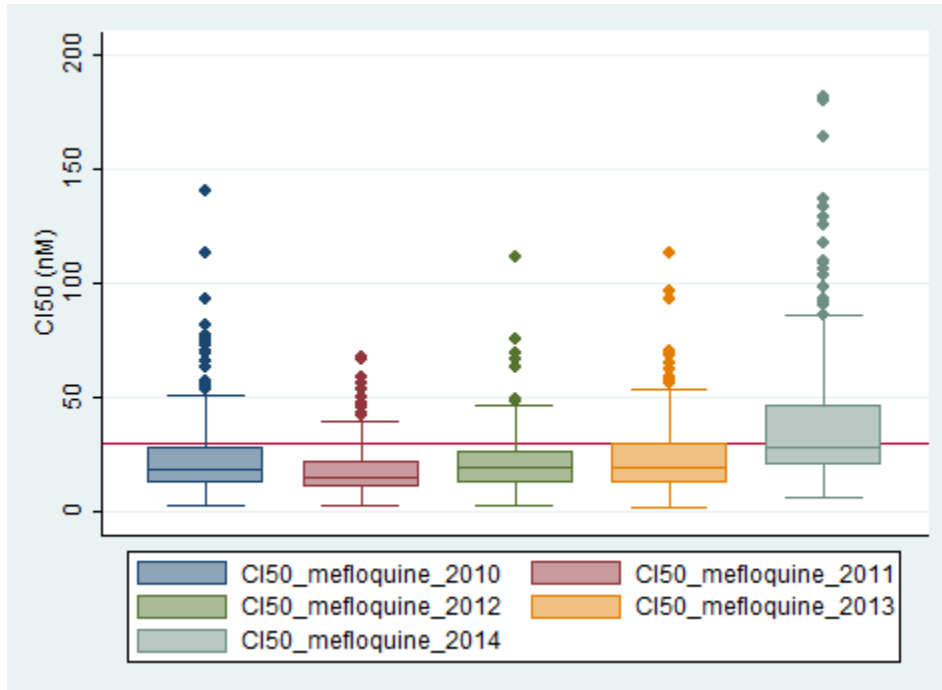


Figure 28 Evolution des chimiosensibilités à la méfloquine entre 2010 et 2014  
 2010 n : 238 ; 2011 n : 206 ; 2012 n : 320 ; 2013 n : 356 ; 2014 n : 392.  
 La ligne rouge représente le seuil de résistance à 30 nM (Brasseur et al., 1990).

**e. Pyronaridine**

Cent vingt-sept échantillons ont pu être analysés et ont montré une  $CI_{50}$  2,9 nM à 1347 nM (Figure 29). Deux isolats (1.57%) ont montré une  $CI_{50}$  > 60 nM (seuil de résistance fixé) provenant du Gabon et du Burkina Faso.

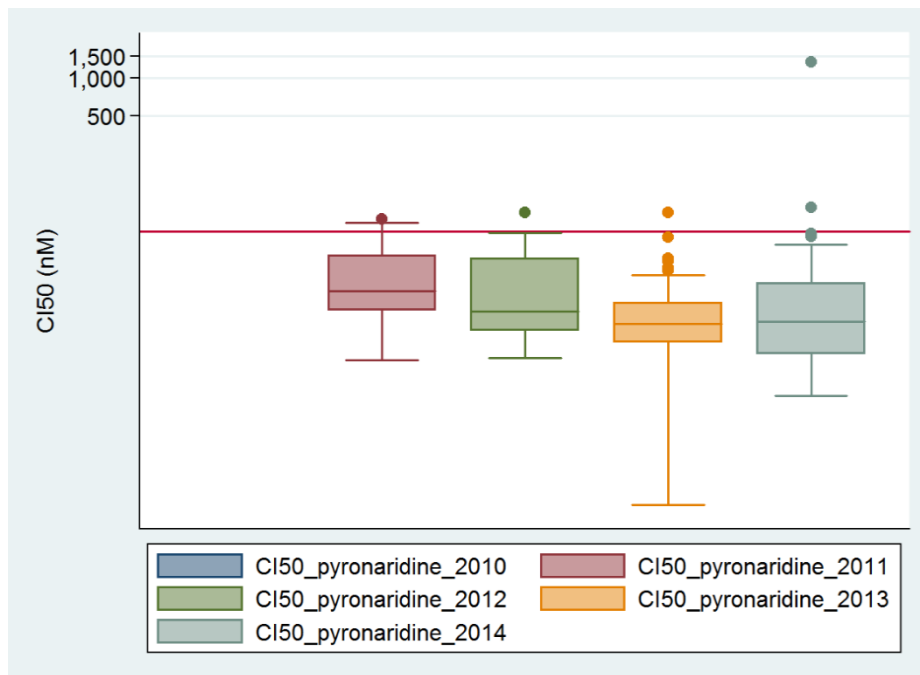


Figure 29 Evolution des chimiosensibilités à la pyronaridine entre 2010 et 2014  
 2010 n : 0 ; 2011 n : 31 ; 2012 n : 19 ; 2013 n : 74 ; 2014 n : 127.  
 La ligne rouge représente le seuil de résistance à 60 nM (Pascual et al, 2015).

### Analyse des tendances

Au cours des cinq dernières années, la résistance à la chloroquine a régressé. Même si la résistance à la chloroquine diminue en Afrique, il n'est pas envisageable de réintégrer la chloroquine dans l'arsenal thérapeutique contre *P. falciparum*.

Par rapport aux années précédentes, il n'est pas observé de diminution notable de sensibilité aux antipaludiques des molécules partenaires des CTAs (combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine) qui reste élevée; la sensibilité aux dérivés de l'artémisinine évaluée par ces tests *in vitro* n'est pas prédictive du retard de clairance observée *in vivo* dans certaines régions d'endémie. La sensibilité à la doxycycline reste élevée ne remettant pas en cause les recommandations actuelles de chimioprophylaxie pour les voyageurs. La sensibilité des isolats à la méfloquine doit être surveillée, le seuil de diminution de sensibilité proposé doit être validé par l'étude de la relation entre augmentation des  $CI_{50}$  et inefficacité clinique *in vivo* : la diminution du nombre de traitements par cette molécule en France métropolitaine ne permet pas cette validation.

#### 3.3.1.2 Génotype des isolats

En 2014, 1331 isolats de *P. falciparum* prélevés à J0 ont été évalués pour au moins un marqueur moléculaire de résistance.

#### La mutation 76 du gène *pfcr* : résistance à la chloroquine

En 2014, parmi les 1153 isolats génotypés, la proportion d'isolats sauvages *pfcr76* est de 59,9% (54,8% en 2013, 52,5% en 2012, 44,4% en 2011, 50,5% en 2010, 43,1% en 2009, 43,2% en 2008). Ces résultats montrent en 2014 une poursuite de la tendance observée les années précédentes.

La proportion d'isolats sauvages et mutés pour chaque pays est présentée dans le Tableau 34. Le Burkina Faso (87.5%), la République Centre-Africaine (88.9%), la Côte d'Ivoire (70.7%), le Ghana (77.8%), le Tchad (70.0%) et Madagascar (100%) présentent de fortes proportions d'isolats sauvages.

Tableau 34. Proportion d'isolats sauvages et mutés pour le génotype *pfcr* K76T par pays en 2014

Pays	% sauvages (nb)	% mixtes (nb)	% mutés (nb)	Nb amplifiés
<b>Afrique</b>				
Angola	55.5 (5)	33.3 (3)	11.2 (1)	9
Bénin	47.4 (9)	(0)	52.6 (10)	19
Burkina Faso	<b>87.5 (42)</b>	2.1 (1)	10.4 (5)	48
Cameroun	53.9 (117)	11.1 (24)	35.0 (76)	217
RCA	<b>88.9 (48)</b>	7.4 (4)	3.7 (2)	54
Congo	25.0 (11)	9.1 (4)	65.9 (29)	44
Congo RDC	25 (4)	25.0 (4)	50.0 (8)	20
Côte d'Ivoire	<b>70.7 (210)</b>	12.8 (38)	16.5 (49)	297
Erythrée	(0)	(0)	(1)	1
Ethiopie	(0)	(0)	(3)	3
Gabon	37.5 (15)	5.0 (2)	57.5 (23)	40
Ghana	<b>77.8 (7)</b>	0 (0)	22.2 (2)	9
Guinée	37.3 (19)	9.8 (5)	52.9 (27)	51
Guinée Equat	66.6 (2)	0 (0)	33.4 (1)	3
Guinée Bissau	(0)	(1)	(0)	1
Liberia	(0)	(0)	(2)	2
Madagascar	<b>100 (3)</b>	(0)	(0)	3
Mali	50.0 (65)	9.2 (12)	40.8 (53)	130
Niger	50.0 (2)	0 (0)	50.0 (2)	4
Nigeria	25 (4)	6.2 (1)	68.8 (11)	16

Sénégal	52.6 (20)	2.7 (1)	44.7 (17)	38
Sierra Leone	50 (2)	0 (0)	50 (2)	4
Soudan	(1)	(1)	(0)	2
Syrie	(1)	(0)	(0)	1
Tchad	70.0 (14)	5.0 (1)	25.0 (5)	20
Togo	62.2 (28)	11.1 (5)	26.7 (12)	45
<b>Amériques</b>				
Haiti	(1)	(0)	(0)	1
<b>Autre</b>				
Cambodge	(0)	(0)	(1)	1
Inde	(0)	(0)	(1)	1
Philippines	(0)	(0)	(1)	1
Arabie Saoudite	(1)	(0)	(0)	1
Maurice	(0)	(0)	(1)	1

### **La mutation du gène *pfcytb* : résistance à l'atovaquone**

Tous les isolats (1143) J0 génotypés en 2014 sont sauvages.

En revanche, la mutation sur le codon 268 du gène *pfcytb* (Y268S ou Y268C) a été retrouvée sur quatre isolats obtenus chez des patients en échec thérapeutique précoce ou tardif après un traitement par la Malarone® ; dont trois isolats J0 étaient de génotype sauvage et pour le 4ème, il n'y a eu d'échantillon J0 analysé. Le génotypage à J0 n'est pas contributif pour détecter la probabilité de développer un échec thérapeutique associé à une résistance à l'atovaquone.

### **La mutation du gène *pfmdr1* : résistance à la méfloquine et à la luméfantine**

En 2014, parmi les 865 isolats génotypés, la proportion d'isolats sauvages *pfmdr1* 86 est de 82.7%. La proportion d'isolats sauvages et mutés pour chaque pays est présentée dans le Tableau 35.

**Tableau 35** : Proportion d'isolats sauvages et mutés pour le génotype *pfmdr1* N86Y par pays en 2014

<b>Pays</b>	<b>% sauvages (nb)</b>	<b>% mixtes (nb)</b>	<b>% mutés (nb)</b>	<b>Nb amplifiés</b>
<b>Afrique</b>				
Angola	83.3 (10)	16.7 (2)	0 (0)	12
Bénin	70.6 (12)	11.8 (2)	17.6 (3)	17
Burkina Faso	82.9 (34)	4.9 (2)	12.2 (5)	41
Cameroun	68.3 (86)	8.7 (11)	23.0 (29)	126
RCA	97.6 (41)	0 (0)	2.4 (1)	42
Congo	62.5 (10)	0 (0)	37.5 (6)	16
Congo RDC	83.3 (5)	16.7 (1)	0 (0)	6
Côte d'Ivoire	87.6 (247)	4.2 (12)	8.2 (23)	282
Erythrée	(1)	(0)	(0)	1
Ethiopie	(2)	(0)	(0)	2
Gabon	75.0 (18)	8.3 (2)	16.7 (4)	24
Ghana	100 (7)	0 (0)	0 (0)	7
Guinée	83.8 (31)	8.1 (3)	8.1 (3)	37
Guinée Equat	33.4 (1)	66.6 (2)	0 (0)	3
Guinée Bissau	(1)	(0)	(0)	1
Madagascar	(1)	(0)	(0)	1
Mali	81.5 (97)	5.1 (6)	13.4 (16)	119
Niger	(2)	(1)	(0)	3
Nigeria	68.8 (11)	12.4 (2)	18.8 (3)	16
Sénégal	86.1 (31)	8.3 (3)	5.6 (2)	36

Sierra Leone	(2)	(0)	(0)	2
Soudan	(2)	(0)	(0)	2
Syrie	(1)	(0)	(0)	1
Tchad	88.9 (16)	0 (0)	11.1 (2)	18
Togo	89.7 (35)	2.3 (1)	8.0 (3)	39
<b>Amériques</b>				
Guyane	(1)	(0)	(0)	1
<b>Autre</b>				
Inde	(1)	(0)	(0)	1
Philippines	(1)	(0)	(0)	1
Maurice	(1)	(0)	(0)	1

### **Polymorphisme du gène K13-propeller**

En 2014, le gène K13 a été séquencé chez 1256 isolats. Les différents polymorphismes sont présentés dans le Tableau 36.

**Tableau 36** : Proportion d'isolats mutés pour le gène K13 par pays en 2014

<b>Polymorphisme</b>	<b>% (nombre)</b>	<b>Pays</b>	<b>Traitement</b>	<b>Efficacité</b>
Délétion N142	1.4 (1/73)	Gabon	Artésunate	Ok
Insertion NN142	2.7 (2/73)	Sénégal Gabon	Quinine Quinine	Ok Ok
H136N	1.4 (1/73)	Niger	Eurartésim	Ok
N138D	1.4 (1/73)	Cameroun	Eurartésim	Ok
K189N	1.4 (1/73)	Gabon	Artésunate	Ok
K189T	56.2 (41/73)			
Y482S	0.08 (1/1195)	Cameroun	Coartem	Ok
S522C	0.2 (2/1195)	RCA Côte d'Ivoire	Coartem Malarone	Ok Ok
S522R	0.008 (1/1195)	Côte d'Ivoire	Eurartésim	Ok
A578S	0.3 (4/1256)	Gabon Cameroun Côte d'Ivoire Mali	Malarone Malarone Quinine Malarone	Ok Ok Ok Ok
Insertion K en 619	2.0 (3/147)	Togo Togo RCA	Eurartésim Quinine ?	Ok Ok ?
G665S	12.5 (1/8)	Cameron	?	?

Les mutations impliquées dans la résistance aux dérivés de l'artémisinine et décrites en Asie, ne sont pas retrouvées. Pour l'instant, il n'y a pas de notion d'association entre les mutations trouvées chez les 1256 isolats analysés avec des échecs cliniques aux dérivés de l'artémisinine.

### **Evolution des génotypes**

Au cours de ces dernières années, la proportion d'isolats sauvages pour la mutation *pfprt76* a progressé passant de 35,4% en 2006 à 59,9% en 2014. La diminution de la pression médicamenteuse dans les pays d'endémie africains avec l'utilisation des combinaisons thérapeutiques de dérivés d'artémisinine en première ligne de traitement en est l'explication la plus probable.

Le type sauvage *pfmdr1* 86 est associé avec une diminution de sensibilité à la luméfantine.

De nouvelles mutations du gène K13 ont été identifiées dans les isolats contractés en Afrique : leur implication dans la résistance aux dérivés de l'artémisinine doit être étudiée.

### **3.3.2 Surveillances de la sensibilité des isolats importés de *P. falciparum* sur l'île de la Réunion – Pôle métropole**

En 2014, aucun isolat importé sur l'île de la Réunion n'a pu être transmis au CNR du paludisme mais la transmission de ces isolats a été ré-initiée pour l'année 2015.

### 3.3.3 Surveillances de la sensibilité des isolats de Mayotte– Pôle métropole

En 2014, 26 isolats collectés à Mayotte en 2013 et 4 isolats collectés en 2014 ont été transmis au CNR. En raison de l'éloignement géographique et des contraintes de transport et d'acheminement, seuls les géotypages ont été réalisés.

Sur les 80 cas de paludisme déclarés à Mayotte en 2013, 26 isolats ont été transmis (24 *P. falciparum* et 2 co-infections *P. falciparum* + *P. malariae*). 22 cas (85%) sont des paludismes d'importation et 4 de nature indéterminée (paludisme autochtone ?). 18 cas (69%) proviennent de Grande Comore, deux d'Anjouan, un de Mohéli and un de Madagascar.

En 2014, 4 isolats ont été transmis au CNR (3 *P. falciparum* et 1 *P. malariae*). 3 cas proviennent de Madagascar et 1 cas de Grande Comore.

19% des souches en 2013 présentent une mutation sur le gène *K13-propeller*. Quatre nouvelles mutations ont été identifiées : N490H (Grande Comore), F495L (nature indéterminée), N554H/K (Grande Comore et Anjouan) et E596G (Grande Comore). Pas de mutation identifiée sur les 4 isolats de 2014.

En 2013-2014, 25% des isolats sont mutés sur *pfcr* 76, 90% sont des triples mutants sur *pfdhfr* (108/51/59) et 20% des isolats sont mutés à la fois du *pfcr* 76 et *pfdhfr* 108.

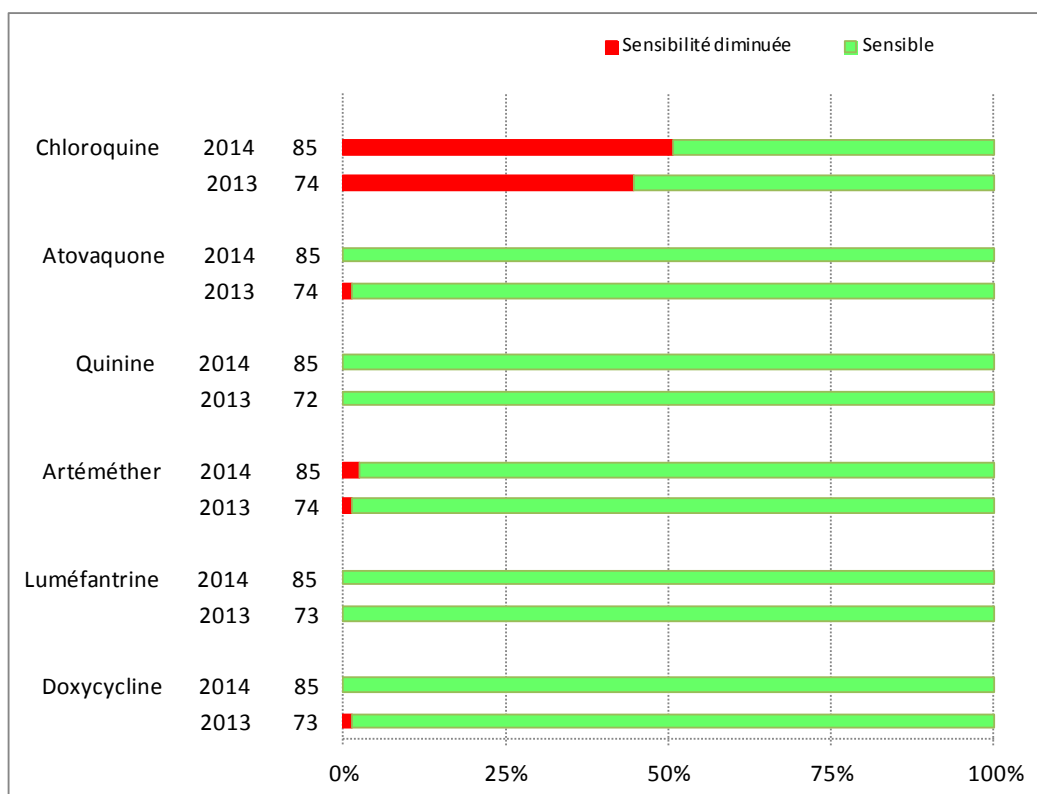
53,8% des isolats sont de type sauvage pour le codon *pfmdr1* 86.

### 3.3.4 Surveillance de la résistance de *Plasmodium falciparum* aux antipaludiques en Guyane

#### 3.3.4.1 Chimiosensibilité de *P. falciparum* aux antipaludiques

Les profils de résistance à 11 molécules de *P. falciparum* ont été déterminés en 2014 selon la technique du semi-microtest isotopique. Parmi les 93 prélèvements de *P. falciparum* reçu en 2014 (incluant les 14 isolats présentant une infection mixte *falci/vivax*), le LA-AG a pu évaluer la chimiosensibilité de 85 isolats à la réception des isolats ou après une mise en culture. Ce nombre d'isolats caractérisés est variable en fonction des molécules et de la proportion de tests interprétables.

La figure ci-dessous présente uniquement les molécules utilisées en thérapeutique ou prophylaxie de première ligne.



**Figure 30.** Niveau de sensibilité *in vitro* de *P. falciparum* envers six molécules antipaludiques.

#### Préambule sur l'interprétation des tests *in vitro*

**Définition des isolats résistants** : Nous tenons à rappeler que pour la majorité des molécules testées, il s'agit d'être très prudent dans l'interprétation des tests puisque, excepté pour l'atovaquone et la chloroquine, les seuils *in vitro* utilisés pour catégoriser les sensibilités des isolats n'ont pas été corrélés avec : i) des données d'efficacité thérapeutique *in vivo* (absence d'échec thérapeutique ou absence d'étude de suivi clinique) ou, ii) avec un marqueur moléculaire de résistance validé. L'absence de ce type de données impose une détermination des seuils selon des méthodes statistiques. De ce fait, nous avons choisi de ne pas utiliser le mot résistance mais plutôt "de sensibilité diminuée", pour les isolats présentant une sensibilité au dessus du seuil pour les molécules en question. Nous n'utiliserons le terme résistant que pour la chloroquine et l'atovaquone qui sont les deux seules molécules pour lesquelles une corrélation a pu être démontrée.

Les **seuils de résistance**, corrélés avec les données *in vivo* ou génomiques, sont :

- 100nM pour la chloroquine (Dedet *et al.*, 1988),
- 400nM pour l'atovaquone (Savini *et al.*, 2008).

Pour ces deux molécules, nous utiliserons le terme d'isolat résistant lorsque les valeurs de  $CI_{50}$  observées seront supérieures au seuil.

Les **seuils de diminution de sensibilité** consensus et propres à chacune des molécules sont:

- 800nM pour la quinine (Basco & Le Bras, 1994),
- 35  $\mu$ M pour la doxycycline (Briolant *et al.*, 2009),
- 12nM pour l'artéméther (Basco & Le Bras, 1993),
- 150nM pour la luméfantrine (Pradines *et al.*, 1999),
- 6nM pour la dihydro-artémisinine (Basco & Le Bras, 1993),
- 80nM pour la pipéraquline (Basco & Ringwald, 2003, développée en 2009),
- 6nM pour la pyronaridine (Basco & Le Bras, 1992, développée en 2009),
- 30nM pour la méfloquine (Basseur *et al.*, 1990),
- 60nM pour la monodéséthyl-amodiaquine (Ringwald *et al.*, 1998, développée en 2009).



**Influence de l'adaptation des isolats à la culture cellulaire** : Entre 2010 et 2013, les valeurs de chimiosensibilité déterminées après mise en culture des parasites avaient été analysées séparément. Aucune différence significative n'avait été observée sauf pour la pyronaridine. Ainsi, cette année, nous avons décidé de faire cette distinction uniquement pour cette dernière molécule et de regrouper toutes les autres valeurs. Pour un isolat, la valeur considérée a été : la valeur déterminée à J0 ou, la valeur de Jx lorsqu'il n'y avait pas de donnée à J0.

**Influence de l'atmosphère d'incubation** : Début 2013, nous avons modifié nos conditions de culture et incubé nos tests à 5% CO<sub>2</sub>, 10% d'O<sub>2</sub> alors que jusque là, ces derniers étaient incubés en jarre à bougie soit 2,7% de CO<sub>2</sub> et 17,5% d'O<sub>2</sub>. En effet, nous avons fait l'acquisition d'un deuxième incubateur à atmosphère contrôlé dédié à la manipulation des radioéléments et qui présente l'avantage de mieux maîtriser les conditions d'incubation que des jarres à bougie où l'atmosphère pouvait varier plus largement en fonction de l'étanchéité de la jarre et des bougies utilisées.

L'atmosphère d'incubation a eu une forte influence sur les valeurs de CI<sub>50</sub> de la famille des amino-4-quinoléines à savoir, chloroquine, monodéséthyl-amodiaquine, méfloquine et quinine dans une moindre mesure.

### Présentation des données

En plus du tableau récapitulatif des tendances en termes de résistance ou de diminution de sensibilité par rapport à 2013 (Figure 30), une analyse molécule par molécule est effectuée. Elle reprend les dates clés concernant la molécule vis-à-vis des recommandations thérapeutiques et prophylactiques pour l'utilisation des antipaludiques extraites de la 3<sup>ème</sup> conférence de consensus sur la prise en charge des cas de paludisme en Guyane. Pour les recommandations concernant le Brésil et le Suriname, les publications de l'Organisation Panaméricaine de la Santé et les connaissances des pratiques dans cette région ont été utilisés (WHO, 2009).

Elle présente également le détail des valeurs pour chaque molécule testée est présenté sous forme de boîtes à moustaches de Tukey pour représenter la distribution des valeurs. En effet, le simple classement en isolat sensible ou résistant ou sous forme de moyenne géométrique est trop sensible aux valeurs extrêmes, notamment dans le cas des molécules pour lesquelles le ratio CI<sub>50</sub> résistant/CI<sub>50</sub> sensible peut aller jusqu'à 1000 (ex : atovaquone). Ces boîtes sont construites de la manière suivante :

- Les boîtes à moustache de couleur rouge représentent la distribution des CI<sub>50</sub> des isolats déterminées après une culture *in vitro* d'environ 30 jours, les grises les CI<sub>50</sub> de J0,

- La boîte est délimitée par la valeur du 1<sup>er</sup> quartile (Q<sub>1</sub>) de la distribution pour le trait inférieur et celle du 3<sup>ème</sup> quartile (Q<sub>3</sub>) pour le trait supérieur. La boîte contient donc 50% des valeurs. La médiane est représentée par un trait à l'intérieur de la boîte qui délimite l'espace interquartile,

- La longueur des moustaches est définie par deux valeurs :

- La frontière basse qui est la valeur minimum dans les données qui est supérieure à :  $Q_1 - 1,5 \times (Q_3 - Q_1)$ ,
- La frontière haute qui est la valeur maximum dans les données qui est inférieure à :  $Q_3 + 1,5 \times (Q_3 - Q_1)$ ,

- Les valeurs situées au-delà des moustaches sont individualisées à l'aide d'un point. Elles représentent des valeurs normalement considérées comme aberrantes. Dans notre cas, elles pourraient correspondre à des isolats résistants ou de sensibilité diminuée.

Les logiciels Stata<sup>®</sup> 12 (Statacorp) et Excel<sup>®</sup> (Microsoft) ont été utilisés pour générer ces graphiques.

CHLOROQUINE		
Dates et points clés en Guyane	1995	Utilisation limitée aux traitements des accès palustres à <i>P. vivax</i> et <i>P. malariae</i> (idem au Brésil et au Suriname en association avec la primaquine),
	2002	Recommandation en prophylaxie en association avec le proguanil chez les enfants < 8 ans.
Médiane [min ; max]	116,65 [16,51 ; 689,30]	
Proportion de résistants	50,6%	
Seuil de résistance	100nM, niveau intermédiaire : 80-100nM (Dedet et al., 1988)	

Avec l'incubation des tests à 10% d'oxygène, la proportion des isolats résistants est stable à 50% des isolats. Cette molécule n'est plus utilisée en thérapeutique contre *P. falciparum* depuis des années.

ATOVAQUONE		
Dates et points clés en Guyane	1995	2 <sup>ème</sup> ligne thérapeutique des accès simples ou de la femme enceinte à <i>P. falciparum</i> en association avec le proguanil (Malarone <sup>®</sup> ),
	2002	Recommandée en prophylaxie chez les plus de 40kg et la femme enceinte en association avec le proguanil (Malarone <sup>®</sup> ).
Médiane [min ; max]	3,17 [0,71 ; 13,52]	
Proportion de résistants	0%	
Seuil de résistance	400nM (Savini et al., 2008)	

En 2014, aucun isolat résistant à l'atovaquone n'a été identifié.

Cette molécule en association avec la proguanil reste donc efficace en Guyane.

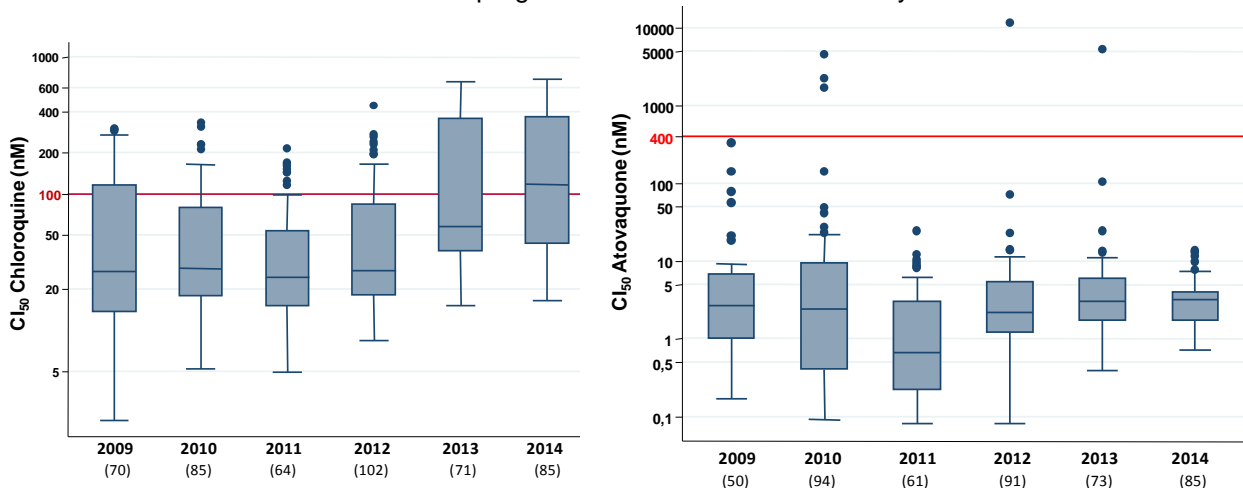


Figure 31. Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2014 : chloroquine (gauche), atovaquone (droite).

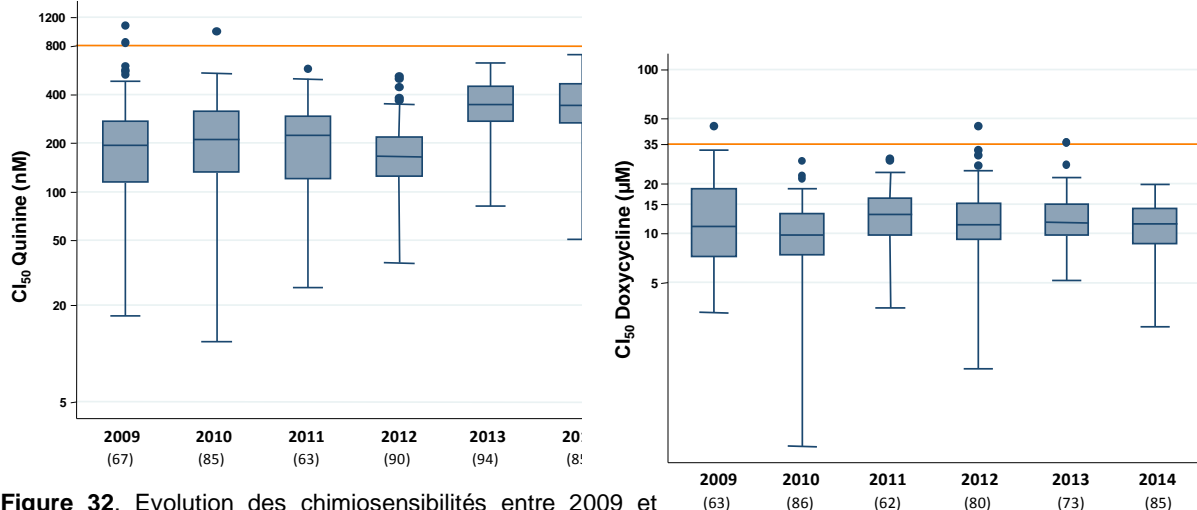
La ligne rouge représente le seuil de résistance, les boîtes rouges les valeurs de chimiosensibilité déterminées après l'adaptation à la multiplication *in vitro* de l'isolat. Les effectifs sont indiqués entre parenthèses.

QUININE		
Dates et points clés en Guyane	1995	1 <sup>ère</sup> ligne thérapeutique des accès graves à <i>P. falciparum</i> ou de la femme enceinte en association avec une cycline (idem au Brésil), et 3 <sup>ème</sup> ligne des accès simples,
Médiane [min ; max]	341,39 [50,8 ; 706,61]	
Proportion de résistants	0%	
Seuil de diminution de sensibilité	500nM (Basco and Le Bras, 1994)	

Aucun isolat de sensibilité diminuée à la quinine n'a été observé cette année.

DOXYCYCLINE		
Dates et points clés en Guyane	1995	1 <sup>ère</sup> ligne thérapeutique des accès graves à <i>P. falciparum</i> ou de la femme enceinte en association avec la quinine (idem au Brésil), et 3 <sup>ème</sup> ligne des accès simples,
	1995	Recommandée en prophylaxie chez les plus de 15kg non gravides,
	2003	Utilisation systématique en prophylaxie chez les militaires français se rendant en Guyane.
Médiane [min ; max]	11,4 [2,68 ; 19,84]	
Proportion de résistants	0%	
Seuil de diminution de sensibilité	Seuil de diminution de sensibilité : 35µM (Briolant et al., 2009)	

Deux isolats de sensibilité diminuée ont été identifiés avec des  $CI_{50}$  à la limite du seuil, 35,59µM et 35,91µM. Aucune information épidémiologique ne permet de décrire davantage les deux patients impliqués.



**Figure 32.** Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2014 : quinine (gauche), doxycycline (droite).

La ligne rouge représente le seuil de résistance, les boîtes rouges les valeurs de chimiosensibilité déterminées après l'adaptation à la multiplication *in vitro* de l'isolat. Les effectifs sont indiqués entre parenthèses.

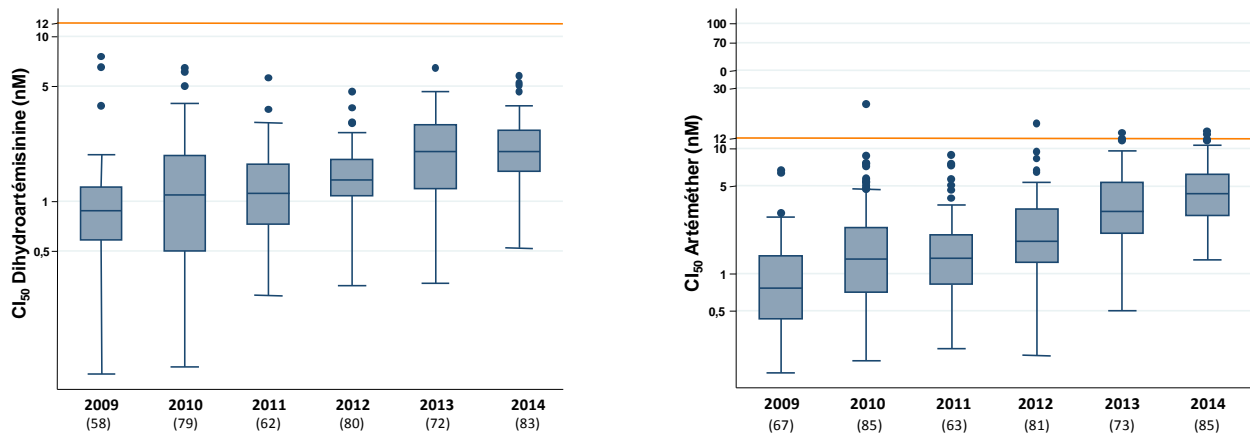
DIHYDROARTEMISININE		
Dates et points clés en Guyane	Site orpaillage	Métabolite actif de l'artémisinine entrant dans la composition de l'Artecom <sup>®</sup> , une spécialité régulièrement retrouvée sur les sites d'orpaillage clandestin en Guyane.
Médiane [min ; max]		2 [0,52 ; 5,77]
Proportion de résistants		0%
Seuil de diminution de sensibilité		12nM (Basco & Le Bras, 1993)

Aucun isolat de sensibilité diminuée à la dihydro-artémisinine n'a été observé cette année.

ARTEMETHER		
Dates et points clés	2007	1 <sup>ère</sup> ligne thérapeutique des accès simples à <i>P. falciparum</i> en association avec la luméfantrine sous la spécialité Riamet <sup>®</sup> , (idem au Brésil depuis 2008 = Coartem <sup>®</sup> ; et au Suriname depuis 2003).
Médiane [min ; max]		4,35 [1,27 ; 13,7]
Proportion de résistants		2,4%
Seuil de diminution de sensibilité		12nM (Pradines et al., 1999)

Un isolat de sensibilité diminuée a été identifié juste au dessus du seuil,  $CI_{50}=12,78nM$  chez un orpailleur de 30ans. C'est la deuxième année que cela se produit. Le test *in vitro* classique n'est cependant pas la bonne méthode pour identifier les parasites potentiellement liés à un retard de clairance parasitaire. Cet échantillon devra faire l'objet d'un test RSA courant 2015.

Ce test *in vitro* n'est pas adapté pour mesurer la sensibilité des parasites aux dérivés de l'artémisinine. On observe cependant une tendance à la hausse des valeurs.



**Figure 33.** Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2014 : dihydroartémisinine (gauche), artémether (droite).

La ligne rouge représente le seuil de résistance, les boîtes rouges les valeurs de chimiosensibilité déterminées après l'adaptation à la multiplication *in vitro* de l'isolat. Les effectifs sont indiqués entre parenthèses.

LUMEFANTRINE		
Dates et points clés	2007	1 <sup>ère</sup> ligne thérapeutique des accès simples à <i>P. falciparum</i> en association avec l'artéméther (Riamet <sup>®</sup> ), idem au Brésil (Coartem <sup>®</sup> ) depuis 2008 et au Suriname depuis 2003.
Médiane [min ; max]	33,49 [9,43 ; 102,88]	
Proportion de résistants	0%	
Seuil de diminution de sensibilité	150nM (Pradines et al., 1999)	

Aucune sensibilité diminuée n'a été identifiée en 2014.

MEFLOQUINE			
Dates et points clés	2002	Arrêt de la recommandation pour le traitement des accès simples à <i>P. falciparum</i> .	
	2002	Arrêt de la recommandation en prophylaxie.	
	Brésil, Suriname	2 <sup>ème</sup> ligne thérapeutique des accès simples à <i>P. falciparum</i> en association avec l'artésunate.	
		<b>J0</b>	<b>Jx</b>
Médiane [min ; max]		11,79 [4,06 ; 29,38]	17,4 [4,76 ; 51,99]
Proportion d'isolats de sens. diminuée		0%	25,39%
Seuil de diminution de sensibilité		30 nM (Brasseur et al., 1990)	

\* Test de Kruskal wallis permettant de comparer les deux distributions J0 et Jx de 2013 et 2014.

Plusieurs isolats de sensibilité diminuée ont été observés essentiellement chez les isolats testés après multiplication *in vitro*. Pour cette raison, nous n'avons pas regroupé les deux groupes de valeurs car l'adaptation à la multiplication *in vitro* semble avoir un effet.

La tendance à la diminution de sensibilité observée l'année dernière se confirme cette année. La détermination du nombre de copies du gène *pfmdr1* n'ayant pas pu être réalisée à temps, ce sera effectué le plus rapidement possible en 2015. Cette tendance peut être en partie, mais en partie uniquement, expliquée par le changement d'atmosphère d'incubation des tests. En effet, les contrôles qualité effectués sur les souches de référence montrent également une augmentation.

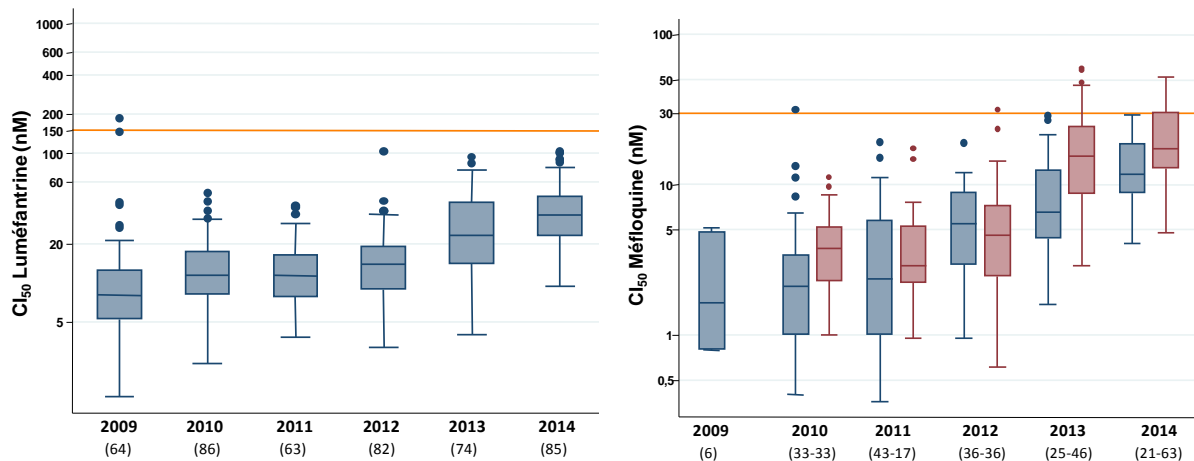


Figure 34. Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2014 : luméfantrine (gauche), méfloquine (droite).

La ligne rouge représente le seuil de résistance, les boîtes rouges les valeurs de chimiosensibilité déterminées après l'adaptation à la multiplication *in vitro* de l'isolat. Les effectifs sont indiqués entre parenthèses.

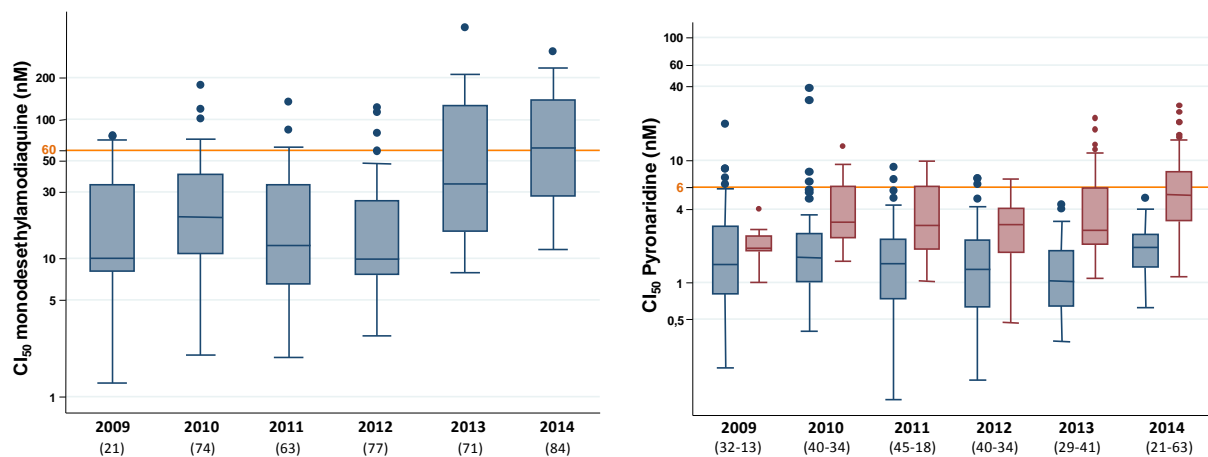
MONODESETHYLAMODIAQUINE	
Dates et points clés	Utilisation dans de nombreux pays en association avec l'artésunate pour les traitements des accès palustres à <i>P. falciparum</i> .
Médiane [min ; max]	62,19 [11,51 ; 309,61]
Proportion de résistants	38,1%
Seuil de diminution de sensibilité	60 nM (Ringwald et al., 1998)

Le pourcentage d'isolats de sensibilité diminuée est de l'ordre de 40%, comme l'année précédente. Si l'on compare les sensibilités à la chloroquine et celles à la monodéséthylamodiaquine, une forte corrélation est observée, signe d'une résistance croisée.

PYRONARIDINE			
Dates et points clés	2013	Avis favorable de l'agence européenne du médicament en association avec l'artésunate (Pyramax <sup>®</sup> ), pour les traitements des accès palustres à <i>P. falciparum</i> en Asie du sud est.	
	<b>J0</b>	<b>Jx</b>	<b>p</b>
Médiane [min ; max]	1,92 [0,62 ; 4,86]	5,20 [1,12 ; 27,85]	0,008*
Proportion d'isolats de sens. diminuée	0%	41,27%	
Seuil de diminution de sensibilité	6 nM (Basco & Le Bras, 1992)		

\* Test de Kruskal wallis permettant de comparer les deux distributions J0 et Jx de 2013 et 2014.

Comme pour la méfloquine, nous avons fait le choix de ne pas regrouper les valeurs obtenues avant et après mise en culture puisqu'une différence significative était observable l'année dernière. Cette observation ce confirme cette année sans que l'on puisse vraiment expliquer pourquoi.



**Figure 35.** Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2014 : monodéséthyl-amodiaquine (gauche), pyronaridine (droite).

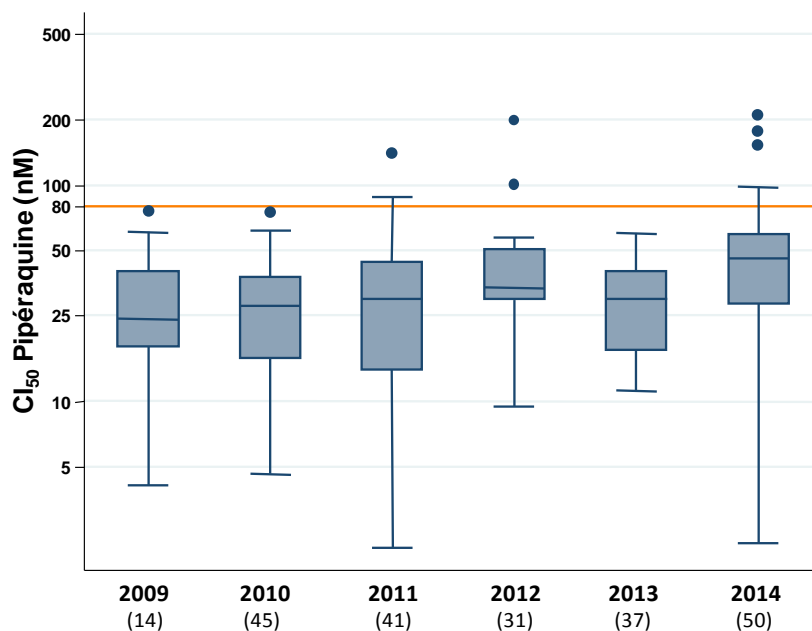
La ligne rouge représente le seuil de résistance, les boîtes rouges les valeurs de chimiosensibilité déterminées après l'adaptation à la multiplication *in vitro* de l'isolat. Les effectifs sont indiqués entre parenthèses.

## PIPERAQUINE

<b>Dates et points clés en Guyane</b>	Utilisation récente (2012) en Asie du sud est et début de déploiement (2013) en Guyane en association avec la dihydroartémisinine (Eurartesim <sup>®</sup> ) pour le traitement des accès palustres simples à <i>P. falciparum</i> chez l'adulte et l'enfant de plus de 5 kg. Utilisation en auto-médication par les orpailleurs clandestins depuis 2002 en association avec la dihydro-artémisinine et le triméthoprim (Artecom <sup>®</sup> )
<b>Médiane [min ; max]</b>	45,71 [2,22 ; 211,11]
<b>Proportion de résistants</b>	<b>16%</b>
<b>Seuil de diminution de sensibilité</b>	80 nM (Basco & Ringwald, 2003)

Depuis octobre 2011, cette molécule a reçu une autorisation de mise sur le marché de la part de la haute autorité de santé pour le traitement des accès simples à *P. falciparum*, chez l'adulte et l'enfant de plus de 5 kg, en association avec dihydroartémisinine sont le nom commercial d'Eurartesim<sup>®</sup>. Sa première utilisation massive a eu lieu au Cambodge. En Guyane, elle commence à être utilisée notamment dans les forces armées de Guyane.

Encore cette année, le pourcentage de tests interprétables reste faible. Il s'avère que certains isolats sont impossibles à phénotyper même si on réitère le test plusieurs fois. Présentent-ils un profil phénotypique particulier ? Nous tenterons dans les mois qui viennent de mieux comprendre ce phénomène.



**Figure 36.** Pipéraquline : évolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2014.

La ligne orange est le seuil de diminution de sensibilité. La boîte rouge représente les valeurs de chimiosensibilité déterminées après l'adaptation à la multiplication *in vitro* de l'isolat. Les effectifs sont indiqués entre parenthèses.

### 3.3.4.2 Survie de *P. falciparum* en présence de dérivés de l'artémisinine

Cette méthode permettant d'évaluer la capacité des parasites à survivre à une exposition de 6h à 600nM de dihydro-artémisinine a été mise en œuvre 27 fois chez 22 isolats différents. 81% des tests étaient interprétables et cinq d'entre eux présentaient un taux de survie supérieur à 1% (1,08% ; 1,76% ; 3,43% ; 8,70% et 45%). Ces isolats doivent maintenant faire l'objet d'une confirmation de ce résultat par un nouveau test réalisé en présence systématique d'une souche résistante provenant du Cambodge. En effet, après quelques échanges avec d'autres laboratoires maîtrisant cette technique, des résultats faussement sensibles pourraient être constatés en cas de conditions de culture non optimales. L'ensemble de ces données concerne des tests réalisés *in vitro*, après adaptation des isolats à la multiplication *in vitro*.

### 3.3.4.3 Génotypes des isolats

En 2014, le LA-AG a analysé les marqueurs de résistance associés à la résistance à l'atovaquone et aux dérivés de l'artémisinine, à savoir le codon 268 du gène *pfcytb* et la partie 3' du gène *pfK13*.

#### **La mutation 268 du gène *pfcytb* : résistance à l'atovaquone/proguanil**

La mutation sur le codon 268 du gène *pfcytb* (Y268S ou Y268C) confère la résistance à l'atovaquone/proguanil (Malarone<sup>®</sup>) puisqu'elle est systématiquement retrouvée chez les patients en échec thérapeutique (Musset *et al.*, 2006a). Pour 2014, aucun des 88 isolats analysés ne présentait de mutations sur le codon 268.

#### **Génotypage de la partie 3' du gène *pfK13***

Cette partie du gène contient les mutations associées (pour cinq d'entre elles) au retard de clairance parasitaire de *P. falciparum* après traitement par dérivés de l'artémisinine. Pour 2014, 77 isolats ont été analysés, aucun ne présentait de mutations dans cette partie du gène.

## 3.4 Paludisme grave en 2014

### 3.4.1 Cas graves déclarés dans la base CNR du Paludisme en 2014

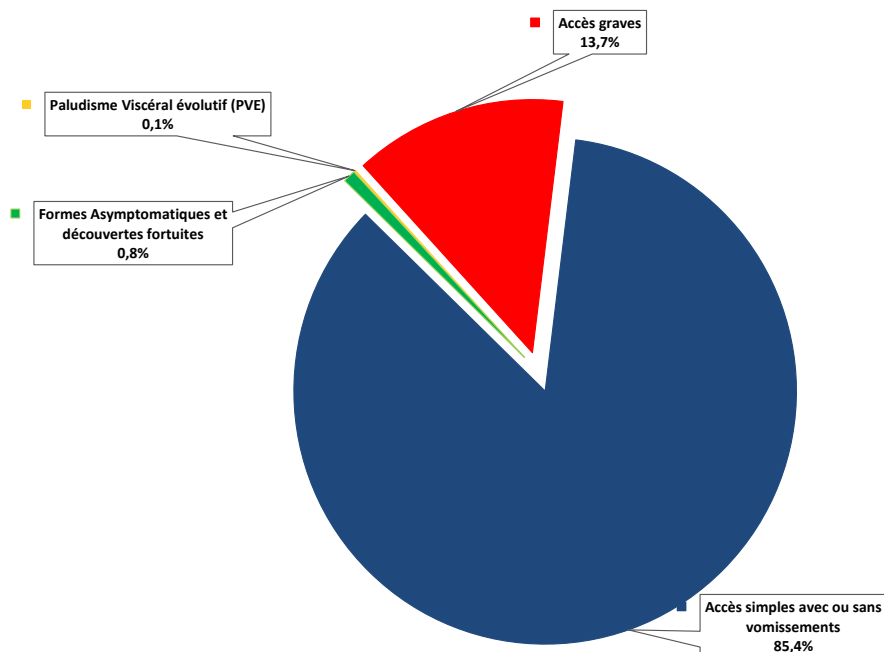


Figure 37 : Répartition des cas en fonction de l'état clinique, CNR du Paludisme, année 2014, n = 2 269



Pour l'année 2014, 2 271 cas sont renseignés pour la variable « état Clinique » (98,8 %) et 310 sont classés grave au moment de la déclaration du cas (13,7 %) auxquels il faut ajouter les 5 accès simples qui ont eu une dégradation de leur état clinique dans les premiers jours d'évolution et qui ont été classés graves secondairement, soit un total de 315 cas graves (13,9 %) contre 267 (12,6 %) en 2013 soit 18 % d'augmentation. Parmi ces cas 11 sont décédés dont 1 n'est jamais arrivé à l'hôpital puisque le diagnostic a été réalisé en post mortem d'un patient trouvé inanimé à son domicile. La létalité mesurée pour l'ensemble des cas est ainsi de 0,48 % stable par rapport à 2013 (0,46 %) alors que celle mesurée pour les cas graves est de 3,5 %, en diminution de 0,2 point en pourcentage par rapport à 2013 (3,7 %). Les critères de gravités sont reportés dans 296 cas (94 %). De 1 à 12 critères de gravité par patient sont rapportés. Un total de 83 patients (28 %) a un seul critère de gravité rapporté. Il s'agit d'une parasitémie >4 % isolée (40 cas), de troubles de la conscience (15 cas), d'une augmentation des lactates (15 cas), de la créatinine (6 cas) ou de la bilirubine (5 cas).. Parmi les 315 accès graves, le sex-ratio H/F est de 1,67 ; 284 patients (90,2 %) sont des adultes et 31 des enfants ≤ 15 ans. L'espèce plasmodiale en cause est identifiée pour tous les cas, il s'agit de *P. falciparum* seul dans 305 cas (96,8 %) ou en association avec une autre espèce dans 4 cas (1,3 %) (3 associations avec *P. ovale* et une avec *P. malariae*). En l'absence de *P. falciparum*, on recense 6 accès graves, 3 avec *P. ovale* (1,0 %), 2 avec *P. malariae* (0,6 %) et 1 avec *P. vivax* (0,3 %). Le patient de retour d'Inde avec une infection prouvée à *P. vivax* (MO, TDR et PCR positifs pour cette espèce) avait comme critères de gravité un choc et des troubles de la conscience. Les cas à *P. ovale* et *P. malariae* avaient un ou 2 critères de gravité. Pour trois patients les lactates étaient au-dessus de la normale et pour 2 patients une élévation de la bilirubine totale et des troubles de la conscience étaient rapportés également. Le traitement initial de l'accès connu dans 5 de ces cas a été un traitement per os dans 4 cas (2 par atovaquone-proguanil et 2 par chloroquine) et par la quinine intraveineuse dans 1 cas. L'évolution a été favorable à chaque fois. Parmi les 296 cas (94,0 %) avec l'origine géographique mentionnée, 190 (64,2 %) étaient originaires d'Afrique, 98 (33,1 %) étaient Caucasiens, 1 (0,3 %) était Asiatique et 7 (2,4 %) étaient d'une autre origine. Parmi les 281 cas (89,2 %) pour lesquels la nature du voyage est connu, 138 (49,1 %) sont classés « VFR » (visite famille ou amis), 25 (8,9 %) sont classés « Affaires professionnels », 40 (14,2 %) sont classés « Autochtones en voyage en France métropolitaine », 17 (6,0 %) sont classés « Touristes exceptés visite famille ou amis », 26 (9,3 %), 16 (5,7 %), 6 (2,1 %), 1 (0,4 %), 2 (0,7 %) et 10 (3,6 %) sont classés respectivement « Expatriés résidents en zone endémique >6 mois les 12 derniers mois », « Militaires », « Mission humanitaire », « Navigants, marins » « Routard et/ou conditions de séjour précaires » et « Autres ». Le pays visité lieu probable de contamination est spécifié dans 311 cas (98,7 %). Il s'agit d'un pays d'Afrique sub-Saharienne dans 309 cas (99,4 %). Deux cas proviennent d'une autre zone géographique, une infection à *P. vivax* au retour d'Inde et une infection à *P. falciparum* au retour des Philippines. Lorsque l'information sur la chimioprophylaxie était connue (n=297, 94,3%), 74 patients (24,9 %) ont déclaré avoir pris un médicament en prévention contre le paludisme. Néanmoins, seuls 15 (20,3 %) ont déclaré une bonne compliance, 5 avec l'atovaquone-proguanil, 1 avec la méfloquine et 9 avec la doxycycline.

Le lieu de prise en charge thérapeutique était renseigné pour 308 patients (97,8 %) et 289 ont été immédiatement hospitalisés. Cependant 14 ont bénéficié d'un traitement ambulatoire. Ces patients avaient 1 ou 2 critères de gravité (parasitémie >4% dans 5 cas). Pour 12 de ces cas le traitement était précisé et il s'agissait d'atovaquone-proguanil dans 10 cas, et d'artémether-luméfántrine et de méfloquine pour les 2 autres patients.

Le traitement est connu pour 306 patients (94,0 %). Le traitement de première intention est un médicament administré par voie parentérale dans 240 cas (78,4 %) Le médicament administré par voie parentérale était la quinine IV dans 61 cas (25,4 %), contre 44,5% en 2013 et l'artésunate IV dans 179 cas (74,6 %) contre 54,5 % en 2013. Il s'agissait de 169 adultes et 10 enfants. Le médicament de première intention est administré par voie orale dans 66 cas (21,6 %). Il s'agit de l'atovaquone-proguanil dans 39 cas, de l'artémether-luméfántrine dans 15 cas, de la méfloquine dans 4 cas, de la DHA-piperaquine dans 3 cas, de la quinine per os et de la chloroquine dans 2 cas. La chloroquine a été administrée pour des infections avec une espèce autre que *P. falciparum*.

Globalement, lorsque l'on combine les médicaments de première et de deuxième ligne, l'artésunate a été administré à 227 patients soit 74,2 % du total des cas graves avec le traitement renseigné (n = 306), contre 55,8 % en 2013. La molécule a été administrée à 209 adultes, soit 76 % des adultes avec un accès grave versus 56 % en 2013 et 18 enfants soit 58 % des enfants avec un accès grave versus 43% en 2013.

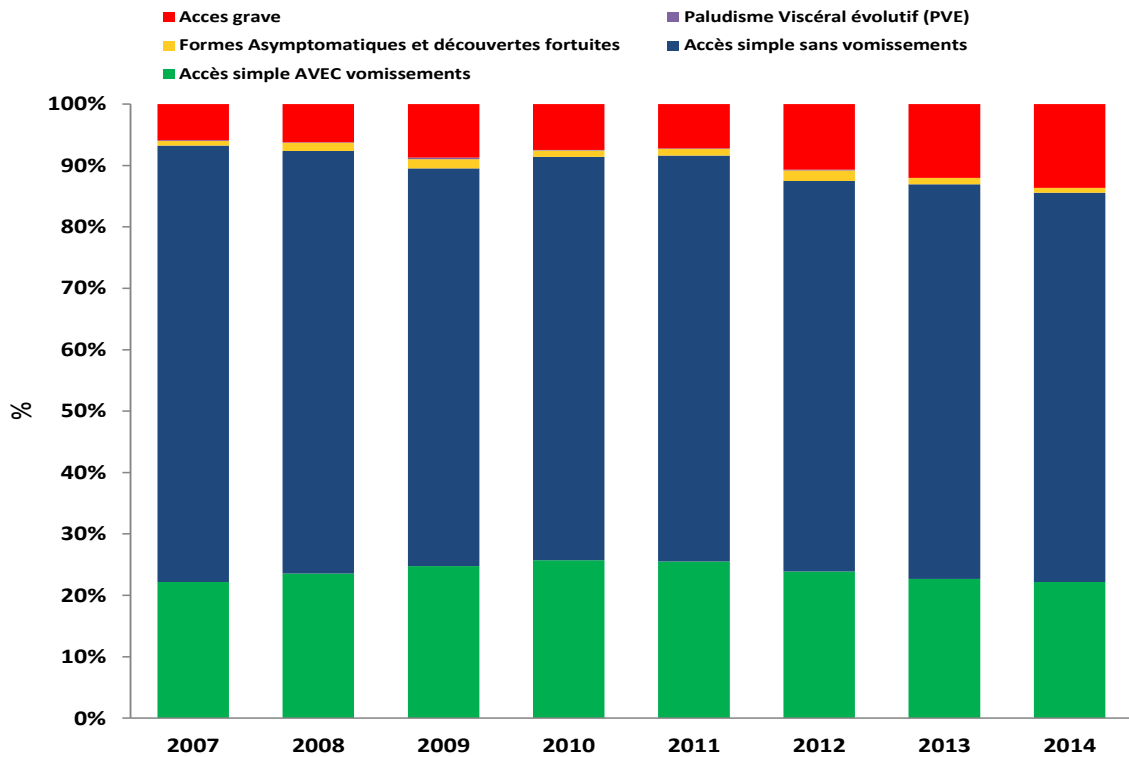


Figure 38 : Évolution de la répartition de l'état clinique selon les années de 2007 à 2014

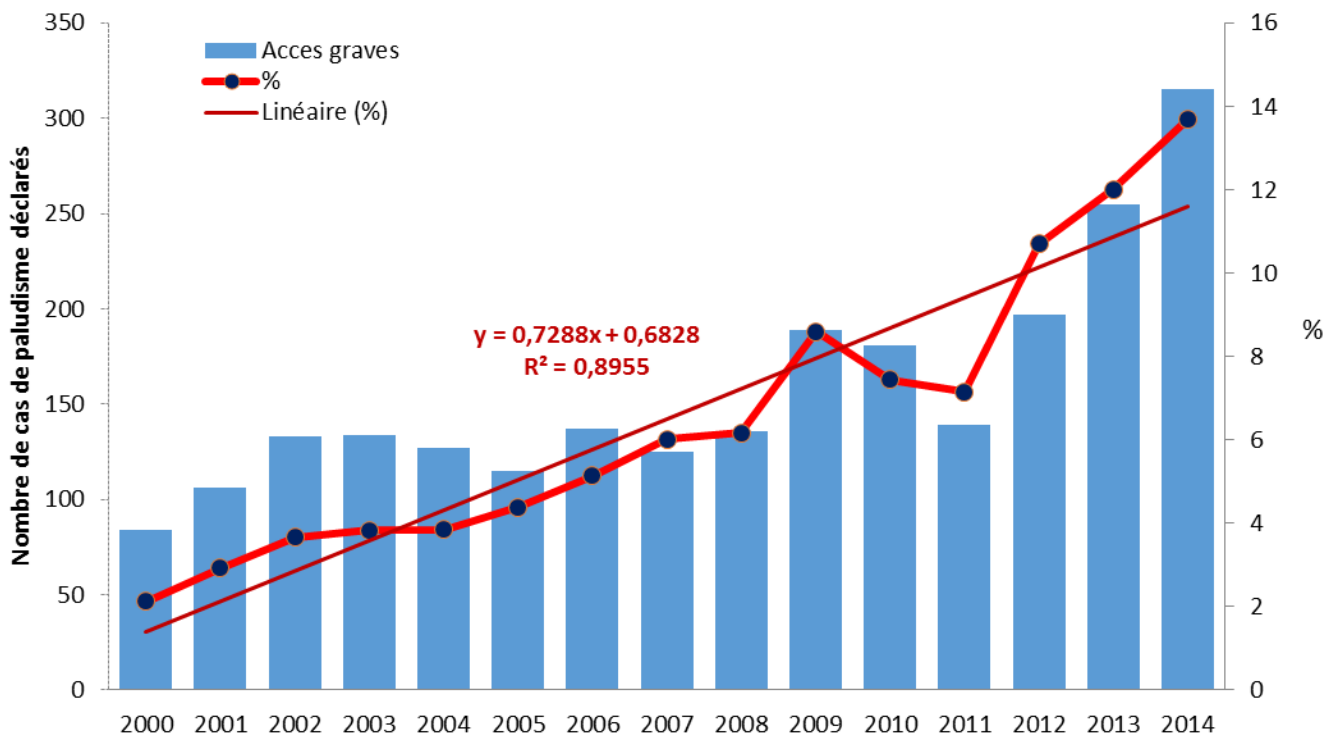
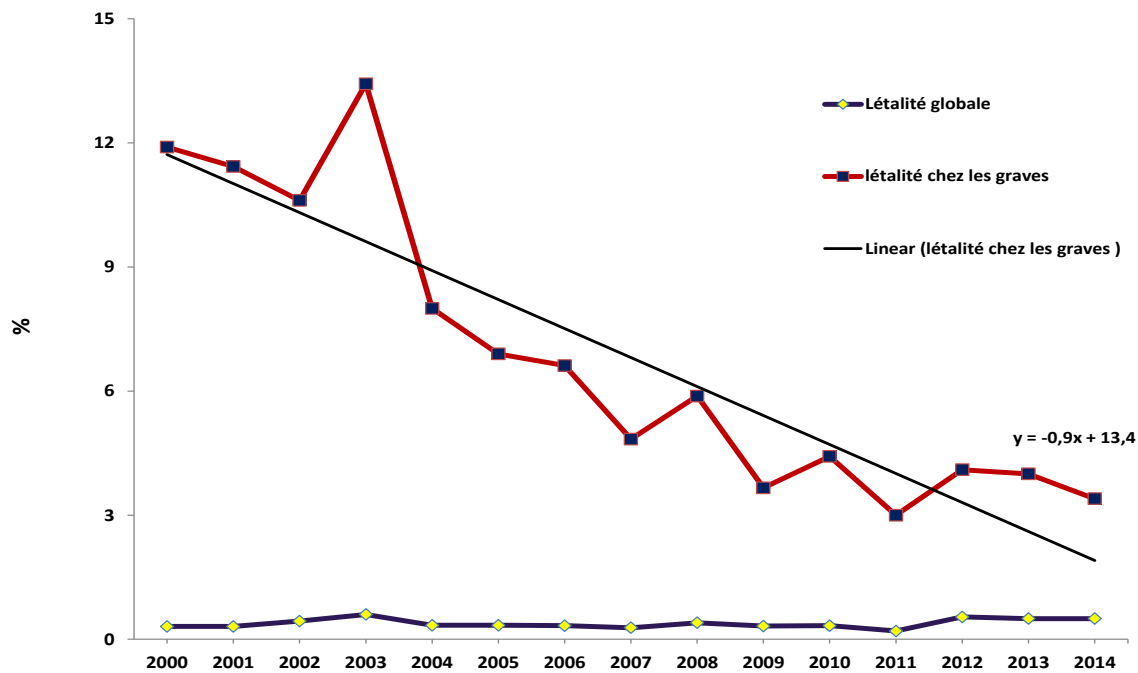


Figure 39 : Évolution des cas graves de paludisme d'importation en France de 2000 à 2014

Le nombre en valeur absolue et la proportion de cas de paludisme grave en France métropolitaine sont passés respectivement de 84 (2,13 %) en 2000 à 315 (13,7%) en 2014. La diminution du nombre et de la

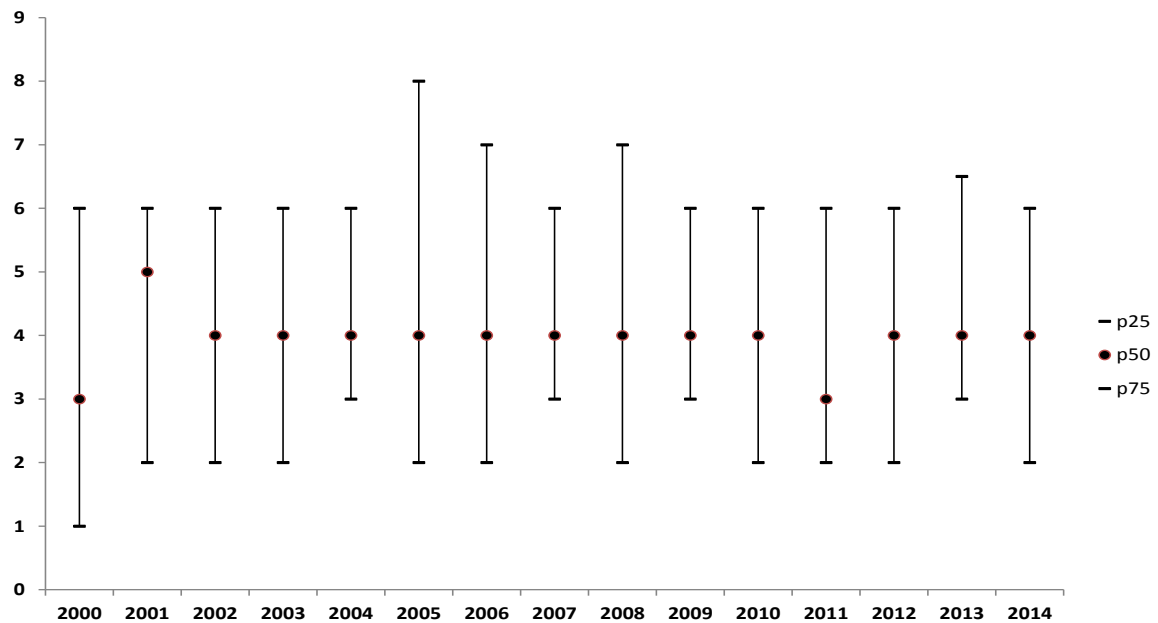
proportion des accès graves constatée en 2010 et 2011 semble donc faire partie des fluctuations annuelles habituelles. La tendance générale, entre 2000 et 2014, est donc globalement à l'augmentation des accès graves sur la période (Figure 40).



**Figure 40 :** Évolution globale et spécifique de la létalité de 2000 à 2014

L'augmentation constatée en proportion des accès graves est accompagnée de manière surprenante d'une diminution significative de la létalité dans la population des accès graves alors qu'elle reste stable dans la population totale.

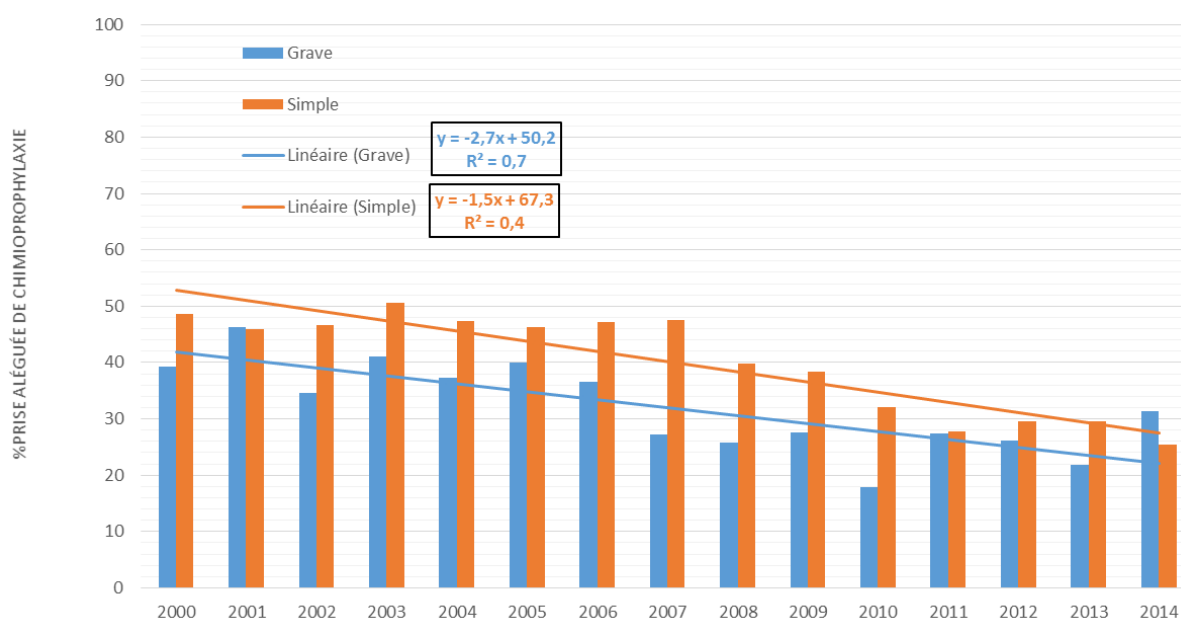
Les méthodes d'analyse, en particulier les critères de définition de l'accès grave, n'ont pas varié. Parmi les principaux facteurs de risque de gravité, le délai diagnostique déclaré est stable depuis 2000 (médiane de 4 jours, IC 95% entre 2 et 6 jours (Figure 41)). L'âge des patients n'a pas varié non plus de manière statistiquement significative sur l'ensemble de la période.



**Figure 41 :** Evolution du délai diagnostique pour paludisme grave de 2000 à 2014

Un certain nombre de phénomènes sont susceptibles de rendre compte de cette évolution des cas graves, en particulier: i/ une baisse significative et régulière, passant de 39,3% en 2000 à 31,3% en 2014

(Figure 43) de la proportion de personnes alléguant une prise de chimioprophylaxie au cours du voyage en zone d'endémie palustre et ii/ une augmentation significative de la proportion des accès graves dans la population des sujets d'origine africaine qui passe de 25,0% à 62,5% avec une diminution en miroir du nombre de ces accès chez les Caucasiens (Figure 44).

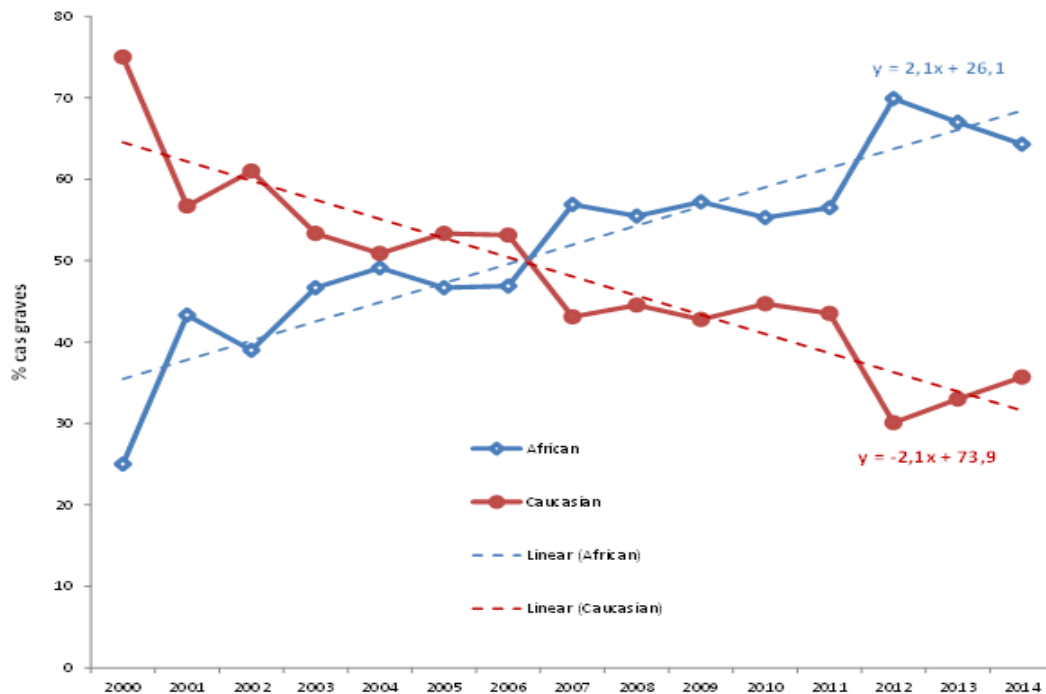


**Figure 42** : Evolution de la prise de chimioprophylaxie déclarée des cas de paludisme graves et simples de 2000 à 2014

**Tableau 37** : Évolution de la prise de chimioprophylaxie déclarée des cas de paludisme graves et simples de 2000 à 2014

Année	Grave	Simple	p-value
2000	39,3	48,7	0,06
2001	46,2	46,0	0,5
2002	34,6	46,6	<b>0,03</b>
2003	41,0	50,6	0,1
2004	37,3	47,3	<b>0,03</b>
2005	40,0	46,3	0,2
2006	36,5	47,1	0,1
2007	27,2	47,5	<b>0,001</b>
2008	25,7	39,8	<b>0,003</b>
2009	27,5	38,3	<b>0,007</b>
2010	17,8	32,1	<b>&lt;0,001</b>
2011	27,4	27,8	0,9
2012	26,1	29,5	0,34
2013	21,9	29,6	0,01
2014	31,3	25,5	0,1

Concernant la prise de chimioprophylaxie alléguée, la tendance évolutive pour les accès graves est orientée de manière statistiquement significative à la baisse avec les années ( $p=0,01$ ) mais cette différence n'est pas significative pour les accès simples ( $p=0,05$  test du chi-deux de tendance). Si l'on effectue une comparaison par année (Tableau 37) une différence statistiquement significative entre accès simples et accès graves existe de façon variable suivant les années. Elle apparaît très nettement à partir de 2007, les accès graves déclarant moins de prise de chimioprophylaxie que les simples. Cette tendance se vérifie en 2014.



**Figure 43** : Evolution en pourcentage des cas graves de paludisme d'importation en fonction de l'origine ethnique africaine ou caucasienne de 2000 à 2014.

En conclusion, l'augmentation progressive de la proportion et du nombre de patients atteints de paludisme grave observée entre 2000 et 2014 continue de s'accroître avec des fluctuations d'une année sur l'autre. **La part prépondérante des sujets d'origine africaine dans les cas de paludisme d'importation, et en parallèle la part croissante des accès graves dans cette population, sont l'un des éléments d'explication des modifications observées. Une prévention ciblée, adaptée à cette population, doit être envisagée. Des études épidémiologiques concernant la chimioprophylaxie des migrants africains sont nécessaires pour adapter les conseils de prévention et les moyens spécifiques pour cette population.**

### 3.4.2 Recueil des isolats et analyse du pitting « naturel » *in vivo*

Le CNR du paludisme site Pitié-Salpêtrière a reçu en 2014, 661 échantillons de sang (+56 %, n=424 en 2013) de 310 patients (+55 %, n=200 en 2013), correspondant à 197 accès graves (+66 %, n=119 en 2013) dont 192 (97 %) adressés par les correspondants du réseau (62 % de couverture des accès graves des correspondants du réseau du CNR du paludisme, contre 47% en 2013). Sont également pris en charge avec les mêmes techniques 51 accès simples avec une parasitémie  $\geq 4\%$  (+112 % n=24 en 2013), 58 accès simples avec une parasitémie  $< 4\%$  (sans changement par rapport à 2013 n=57) et 4 avec une parasitémie non renseignée, utilisés comme témoins pour des molécules autres que l'artésunate.

Concernant les 197 accès graves la répartition des traitements administrés est la suivante :

- Artésunate IV n=127 patients / 340 échantillons (+89 %, n=180 en 2013) (Figure 44a et 45b) dont
  - artésunate IV en première intention n=93
  - artésunate IV en deuxième intention n=34
- Quinine IV en première intention sans artésunate en deuxième intention n=:17 patients (-19 %, n=21 en 2013) / 32 échantillons (Figure 47)
- Autres traitements sans artésunate en deuxième intention :=53 patients (+ 141%, n=22 en 2013)../.118 échantillons (Figure 47)

Un total de 66 patients ont bénéficié d'un suivi biologique tardif avec un échantillon sanguin adressé au CNR du paludisme au-delà du  $J \geq 14$  (+187 %, n=23 en 2013) et 41 sont exploitables pour l'analyse du pitting.

L'analyse du « pitting » naturel et de l'évolution des globules rouges « pittés » participe à la compréhension de mécanismes physiopathologiques singuliers, mis en évidence par le suivi (jusqu'à J28) des patients avec un accès grave traité par artésunate par voie intraveineuse. En particulier pour ce qui concerne le phénomène d'hémolyse tardive (après J10) récemment identifié chez ces patients et confirmé

par le CNR du Paludisme {Zoller, 2011 #973}{Jauréguiberry, 2014 #1591}(Jauréguiberry et al. Emerging Infectious Diseases, in press). La démonstration d'un lien entre le pitting et l'hémolyse tardive a contribué à la visibilité internationale de l'action du Centre National de Référence du Paludisme, l'article de Jauréguiberry, Ndour et al Blood 2014 ayant donné lieu à 5 présentations internationales et ayant été classé « meilleur article clinique de l'année » lors de la revue de littérature sur le paludisme du Président de l'Association Américaine de Médecine Tropicale (ASTMH) lors du congrès mondial à la Nouvelle Orléans en novembre 2014. Les éléments de surveillance présentés dans ce rapport ont été générés grâce à un financement complémentaire obtenu par l'équipe INSERM « Parasite Erythrocytes Pathogénèse » auprès de Fast-Track North Potomac entité financée elle-même par le centre de recherche de l'armée américaine. L'identification de marqueurs prédictifs robustes de l'hémolyse différée obtenue par la synergie entre le CNR du Paludisme et l'équipe de recherche pourrait faciliter à court ou moyen terme la prise en charge des patients traités par artésunate et leur suivi.

Les accès simples pris en compte ont le plus souvent pour origine l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière, et hors le site PSL il s'agit souvent de parasitémies élevées isolées. Les prises en charge thérapeutique sont variées (quinine IV, quinine per os, atovaquone-proguanil, artéméther-luméfantrine, méfloquine), mais le suivi là encore excède rarement J10, 12% 22/184 (contre 9 % en 2013). Ces cas présentent un intérêt particulier du fait de leur parasitémie élevée qui permet une étude in-vitro et des comparaisons avec les patients graves traités par quinine ou artésunate

Id	% Pf	Site	S_G	Trt*1	Trt*2	Date j0	TRS	CRH	CPV	J0	J3	J7	J14	J21	J28
1	10,80	BCT	G	A_iv	AP	01/01/14	1	1	0	1	1	1	1	1	1
2	7,00	HGP	G	A_iv	AL	13/01/14	1	1	1	1	1	1			1
3	20,00	MPL	G	A_iv	AL	08/01/14	0	1	0		1	1			1
4	7,10	BCB	G	A_iv	AL	18/01/14	0	1	0	1	1	1	1	1	1
5	5,60	BCT	G	A_iv	AL	25/01/14	1	1	0	1	1	1	1	1	1
6	8,00	TNN	G	A_iv	AL	03/02/14	0	1	0	1	1	1			
7	9,60	TRG	G	A_iv	NA	03/02/14	0	0	0	1	1	1			
8	0,20	ANG	G	A_iv	AP	12/02/14	1	1	0	1					
9	13,00	NTE	G	A_iv	AL	20/02/14	0	1	0	1	1				
10	0,40	BCB	G	A_iv	AL	18/02/14	0	1	0		1	1			1
11	7,50	NCY	G	A_iv	AL	28/02/14	0	1	0	1	1	1			
12	0,04	CMF	G	A_iv	NA	24/02/14	0	0	0	1					
13	11,80	BST	G	A_iv	NA	06/03/14	0	0	0	1					
14	4,00	BCB	G	A_iv	AL	30/03/14	0	1	0	1	1	1			
15	50,00	Garches	G	A_iv	NA	11/03/14	1	0	0			1	1	1	
16	0,07	BCT	G	A_iv	NA	14/04/14	0	1	0	1	1				
17	1,34	SDN	G	A_iv	AL	14/04/14	NSP	0	0	1	1				
18	2,60	PSL	G	A_iv	AL	22/04/14	0	1	0	1	1	1			1
19	0,80	PSL	G	A_iv	AL	25/04/14	1	1	0	1	1		1		1
20	5,10	BCB	G	A_iv	AL	01/05/14	0	1	0	1					
21	12,00	NTE	G	A_iv	AL	13/05/14	0	1	0	1		1			
22	0,80	PSL	G	A_iv	AL	12/05/14	0	1	0	1	1	1	1	1	
23	21,00	Dieppe	G	A_iv	AL	05/05/14	NSP	0	0				1	1	1
24	0,80	PSL	G	A_iv	AL	17/05/14	0	1	0	1	1	1	1		
25	8,00	PTS	G	A_iv	AL	30/05/14	0	1	0	1	1				
26	0,50	NTE	G	A_iv	AL	11/06/14	0	1	0	1	1				
27	8,00	RDB	G	A_iv	AL	12/06/14	1	1	0		1				
28	11,00	ALY	G	A_iv	DP	19/06/14	0	1	0	1					
29	8,40	PTS	G	A_iv	AL	15/06/14	0	1	0	1	1				
30	NA	HGP	G	A_iv	AP	17/06/14	0	1	0	1					
31	10,00	TNN	G	A_iv	AL	20/06/14	0	1	0	1	1	1			
32	8,00	LRB	G	A_iv	AL	22/06/14	0	1	0	1					
33	13,50	NTE	G	A_iv	AL	23/06/14	0	1	0	1	1	1			
34	0,50	PSL	G	A_iv	AL	27/06/14	0	1	0	1					
35	6,60	NTE	G	A_iv	AL	25/06/14	0	1	0	1	1	1			1
36	5,50	BCT	G	A_iv	AL	04/07/14	0	1	0	1	1	1	1	1	
37	12,00	NTE	G	A_iv	AL	06/07/14	0	1	0	1	1	1			1
38	4,00	PSL	G	A_iv	AL	10/07/14	0	1	0	1					
39	3,00	PSL	G	A_iv	AL	11/07/14	0	1	0	1	1				
40	3,60	NCK	G	A_iv	DP	14/07/14	0	1	0	1	1	1			
41	8,00	TNN	G	A_iv	AL	16/07/14	1	1	0	1					
42	0,10	CCH	G	A_iv	NA	16/07/14	0	1	0	1					
43	1,40	BCT	G	A_iv	AL	17/07/14	0	1	0	1	1			1	1
44	3,80	ABC	G	A_iv	AL	17/07/14	NSP	0	0	1					
45	25,00	ANG	G	A_iv	AL	24/07/14	0	1	0	1	1	1			
46	0,80	SAT	G	A_iv	AP	24/07/14	0	0	0	1				1	
47	16,70	NTE	G	A_iv	AL	28/07/14	0	1	0	1	1		1		1
48	17,00	PTS	G	A_iv	NA	30/07/14	0	1	1	1	1	1	1	1	
49	12,00	SDN	G	A_iv	AL	29/07/14	1	1	1	1	1	1	1		1
50	16,00	ALY	G	A_iv	DP	31/07/14	0	1	0	1					

Figure 44 (a). Suivi biologique des patients avec un accès grave ou simple traités par artésunate IV en première intention (Trt1) pour l'année 2014.

Id	% Pf	Site	S_G	Trt*1	Trt*2	Date j0	TRS	CRH	CPV	J0	J3	J7	J14	J21	J28
51	12,00	NTE	G	A_iv	NA	30/07/14	0	1	0	1					
52	7,50	BEG	G	A_iv	DP	04/08/14	0	1	1	1	1				
53	9,00	VSG	G	A_iv	AL	11/08/14	0	1	0	1	1	1	1	1	
54	12,00	SLS	G	A_iv	AL	11/08/14	0	1	0	1	1	1			
55	13,00	SAT	G	A_iv	AP	12/08/14	0	1	0	1	1	1	1		
56	20,00	BCT	G	A_iv	AL	15/08/14	0	1	0	1	1	1			
57	4,49	BCT	G	A_iv	AL	18/08/14	0	1	0	1					
58	8,00	BSC	G	A_iv	AP	18/08/14	0	1	0	1					
59	7,20	AVC	G	A_iv	NA	19/08/14	0	1	0	1					
60	NR	SAT/TNN	G	A_iv	AL	26/08/14	0	1	0	1	1				
61	7,60	AVC	G	A_iv	0	02/09/14	0	1	0	1					
62	6,00	SDN/NCK	G	A_iv	AL	09/09/14	0	1	0	1	1				
63	2,70	PSL	G	A_iv	AL	31/08/14	0	1	0	1	1			1	1
64	13,00	TNN	G	A_iv	AP	01/09/14	0	1	0	1					
65	0,20	NTE	G	A_iv	AL	03/09/14	0	1	0	1	1	1			
66	9,50	RDB	G	A_iv	DHAP	06/09/14	0	1	0	1	1	1		1	
67	0,50	LMR	G	A_iv	AL	07/09/14	1	1	0	1		1	1		1
68	2,50	BEG	G	A_iv	AP	28/08/14	0	1	0	1					
69	4,50	HMN	G	A_iv	NA	09/09/14	0	0	0	1					
70	14,80	TOU	G	A_iv	AL	10/09/14	0	1	0	1	1	1	1		
71	0,01	NTE	G	A_iv	AL	15/09/14	1	1	0	1	1				
72	6,00	NCK	G	A_iv	AL	16/09/14	0	1	0		1				
73	4,70	PSL	G	A_iv	AL	14/09/14	0	1	0		1	1	1	1	1
74	5,30	PSL	G	A_iv	AL	18/09/14	0	1	0	1	1	1	1	1	1
75	4,80	RNN	G	A_iv	DP	19/09/14	0	1	0	1					
76	6,80	CMF	G	A_iv	NA	21/09/14	0	0	0	1					
77	20,00	NTE	G	A_iv	AL	26/09/14	1	1	0	1	1	1			
78	1,90	ROU	G	A_iv	DHAP	27/09/14	1	1	0	1					
79	5,00	RNN	G	A_iv	DP	04/10/14	0	1	0	1					
80	5,80	NTE	G	A_iv	AP	07/10/14	0	1	0	1	1	1			
81	14,00	Lorient	G	A_iv	NA	14/10/14	0	0	0	1	1	1			
82	2,20	AMN	G	A_iv	AP	19/10/14	1	1	0	1	1	1			
83	1,30	RNN	G	A_iv	DP	18/10/14	0	1	0	1					
84	12,00	RNN	G	A_iv	DP	23/10/14	0	1	0	1	1	1			1
85	1,80	TOU	G	A_iv	0	25/10/14	0	1	1		1	1			
86	6,00	PTS	G	A_iv	AL	24/10/14	0	1	0	1	1				
87	25,00	LMR	G	A_iv	AL	07/11/14	0	1	0	1	1	1			
88	4,00	TOU	G	A_iv	AL	10/11/14	0	1	0	1	1				
89	4,90	BCT	G	A_iv	NA	09/11/14	0	1	0	1	1				
90	25,00	NCK	G	A_iv	AL	04/11/14	0	1	0	1	1				
91	7,40	BCB	G	A_iv	AL	05/12/14	0	1	0	1		1			
92	1,00	DJN	G	A_iv	AL	10/12/14	1	1	1	1	1	1	1	1	1
93	0,65	ROU	G	A_iv	DHAP	24/12/14	1	1	0	1	1				
Nombre de patients en accès grave et A_iv aux différents jours de suivi										85	61	43	19	16	22
										92%	66%	47%	21%	17%	24%
Nombre TOTAL de patients en accès grave et A_iv en première intension suivi terminé										92					
Nombre de Patients avec un suivi biologique complet (pitting + biologie anémie)										24					

246

Figure 45 (a) suite. Suivi biologique des patients avec un accès grave ou simple traités par artésunate IV en première intention (Trt1) pour l'année 2014.



Id	% Pf	Site	S_G	Trt*1	Trt*2	Date j0	TRS	CRH	CPV	J0	J3	J7	J14	J21	J28
94	0,15	BCT	G	AL	A_iv	10/01/14	1	1	0	1	1				
95	5,00	VSG	G	Q_iv	A_iv	14/01/14	0	1	0	1		1	1	1	1
96	9,00	LMG	G	Q_iv	A_iv	22/01/14	NSP	0	0	1	1				
97	17,00	APR	G	Q_iv	A_iv	01/02/14	1	1	0	1	1	1	1		1
98	11,00	PTS	G	Q_iv	A_iv	25/02/14	1	1	1	1	1	1			
99	27,00	ARPAJON	G	Q_iv	A_iv	26/02/14	NSP	0	0	1	1		1		
100	NA	BCT	G	Q_iv	A_iv	01/03/14	1	1	0	1	1	1			
101	4,40	BEG	G	AP	A_iv	16/03/14	0	1	1	1					
102	7,00	VSG	G	Q_iv	A_iv	01/04/14	NSP	0	0	1					
103	9,50	GNB	G	AP	A_iv	30/03/14	1	1	0	1	1	1			1
104	35,00	GNB	G	AL	A_iv	03/04/14	0	1	1	1	1	1	1	1	1
105	5,50	BCB	G	Q_iv	A_iv	09/05/14	0	1	0	1	1		1		
106	8,00	BCT	G	AP	A_iv	10/05/14	0	1	0	1	1	1			1
107	0,00	PSL	G	AP	A_iv	27/05/14	0	1	0	1		1			
108	35,00	NCK	G	Q_iv	A_iv	30/05/14	1	1	0	1	1	1	1	1	1
109	0,03	NCK	G	Arth	A_iv	02/06/14	1	1	0	1	1	1	1		
110	0,70	PTS	G	Q_iv	A_iv	19/03/14	0	1	0	1	1				
111	28,00	APR	G	Q_iv	A_iv	13/06/14	0	1	0	1	1	1			
112	0,20	NCK	G	Q_iv	A_iv	15/06/14	1	1	0	1	1				
113	50,00	LLL	G	Q_iv	A_iv	19/06/14	1	0	0	1	1				
114	8,00	VSG	G	Q_iv	A_iv	11/07/14	0	1	0	1	1	1			
115	0,00	SAT	G	AP	A_iv	18/07/14	0	1	0	1	1				
116	10,00	LMS	G	AL	A_iv	29/07/14	0	1	0	1	1				
117	0,10	CRB	G	MFQ	A_iv	20/08/14	0	1	0	1					
118	12,00	BCT	G	AL	A_iv	26/08/14	0	1	0	1	1				
119	0,30	VSG	G	Q_iv	A_iv	09/09/14	NSP	0	0	1					
120	11,00	ROU	G	Q_iv	A_iv	03/09/14	0	1	0	1					
121	19,10	RDB	G	AP	A_iv	13/09/14	0	1	0	1	1				
122	0,80	ANG	G	Q_iv	A_iv	26/09/14	0	1	0	1	1				
123	9,50	BCT	G	AP	A_iv	17/10/14	0	1	0	1	1				
124	25,00	TRG	G	Q_iv	A_iv	25/10/14	1	1	0	1	1				
125	5,50	BCT	G	AL	A_iv	28/10/14	0	1	0	1		1	1		1
126	5,30	SBG	G	Q_iv	A_iv	26/10/14	0	1	0	1					
127	38,00	TOU	G	Q_iv	A_iv	17/11/14	0	1	0	1	1	1	1	1	1
Nombre de patients en accès grave et A_iv aux différents jours de suivi										34	25	14	9	4	8
										100%	74%	41%	26%	12%	24%
Nombre TOTAL de patients en accès grave et A_iv en seconde intension suivi terminé										34					
Nombre de Patients avec un suivi biologique complet (pitting + biologie anémie)										9					

94

Figure 46 (b). Suivi biologique des patients avec un accès grave ou simple traités par artésunate IV en deuxième intention (Trt2) pour l'année 2014.

Id	% Pf	Site	S_G	Trt*1	Trt*2	Date j0	J0	J3	J7	J14	J21	J28	Suivi J14+
128	12,00	TRG	G	Q_iv	0	02/01/14	1						
129	0,40	APR	G	Q_iv	Q_po	27/01/14	1	1	1				
130	0,30	APR	G	Q_iv	DP	13/03/14	1	1	1	1			
131	0,60	LRY	G	Q_iv	DP	20/03/14	1						
132	3,20	SBG	G	Q_iv	0	29/04/14	1		1				
133	5,70	CMF	G	Q_iv	0	03/05/14	1						
134	13,00	Cholet	G	Q_iv	0	09/05/14	1						
135	10,00	SBG	G	Q_iv	AP	15/05/14	1	1	1				
136	20,50	LRB	G	Q_iv	0	09/06/14	1	1	1				
137	4,00	JVR	G	Q_iv	0	02/07/14	1						
138	6,80	SDN	G	Q_iv	0	04/07/14	1						
139	0,00	LMR	G	Q_iv	AP	17/07/14				1			
140	20,00	LMG	G	Q_iv	0	28/08/14	1	1					
141	4,68	ANG	G	Q_iv	0	06/09/14	1	1	1				
142	5,00	ANG	G	Q_iv	AL	09/09/14	1						
143	10,00	SBG	G	Q_iv	0	14/09/14	1	1	1				
144	1,70	LRY	G	Q_iv	AL	24/10/14	1						
145	10,00	RMS	G	Q_po	Q_iv	16/11/14	1						
146	4,00	LBRY	G	AL	0	23/03/14	1	1					
147	4,00	LBRY	G	AL	0	23/03/14	1	1					
148	7,80	SBG	G	AL	Q_iv	01/04/14	1	1	1		1	1	
149	4,00	GNB	G	AL	0	03/05/14	1	1					
150	NR	LMR	G	AL	0	24/05/14		1					
151	7,00	PSL	G	AL	0	31/05/14	1	1		1			1
152	1,00	DJN	G	DHAP	0	06/07/14	1	1	1				
153	9,00	SBG	G	AL	0	08/07/14	1	1	1				
154	8,25	AVC	G	DHAP	0	09/07/14	1						
155	12,00	TNN	G	AL	0	22/11/14	1	1	1	1			1
156	4,00	CBY	G	AL	0	31/12/14	1		1	1			
157	4,00	LBRY	G	AL	0	23/03/14	1	1					
158	4,00	LBRY	G	AL	0	23/03/14	1	1					
159	7,80	SBG	G	AL	Q_iv	01/04/14	1	1	1		1	1	
160	4,00	GNB	G	AL	0	03/05/14	1	1					
161	NR	LMR	G	AL	0	24/05/14		1					
162	7,00	PSL	G	AL	0	31/05/14	1	1		1			1
163	1,00	DJN	G	DHAP	0	06/07/14	1	1	1				
164	9,00	SBG	G	AL	0	08/07/14	1	1	1				
165	8,25	AVC	G	DHAP	0	09/07/14	1						
166	12,00	TNN	G	AL	0	22/11/14	1	1	1	1			1
167	4,00	CBY	G	AL	0	31/12/14	1		1	1			
168	4,10	RDB/TNN	G	NA	0	11/02/14	1						
169	5,50	BJN	G	AP	0	04/04/14	1		1		1		
170	4,30	BJN	G	AP	0	26/04/14	1	1	1				1
171	5,00	TYE	G	NA	0	30/04/14	1						
172	1,30	PSL	G	AP	0	23/05/14	1	1	1				
173	0,40	PSL	G	AP	0	27/05/14	1	1	1				
174	13,00	LRB	G	AP	0	30/05/14	1	1					
175	0,70	PSL	G	NA	0	02/05/14	1						
176	9,00	BCB	G	AP	0	05/07/14	1	1	1				
177	9,00	HMN	G	AP	0	13/07/14	1						
178	0,00	PSL	G	NA	0	21/07/14				1			
179	0,2	PSL	G	AP	0	24/07/14	1	1	1				
180	4,50	PTS	G	MFQ	0	17/08/14	1	1	1				
181	3,78	PTS	G	MFQ	0	18/08/14	1	1	1				
184	5,80	BCB	G	AP	0	31/08/14	1						
185	3,00	VSG	G	NA	0	06/09/14	1						
186	25,00	BCB	G	NA	0	26/08/14	1	1					
188	15,50	LLL	G	NA	0	07/09/14	1						
190	6,00	PTS	G	MFQ	0	14/09/14	1	1					
191	6,00	LMR	G	MFQ	0	23/09/14	1	1					1
194	5,60	BCB	G	AP	0	03/11/14	1	1	1				
197	15,00	TOU	G	MFQ	0	14/12/14	1						
Nombre d'échantillons reçus au jours de suivi							58	37	28	7	3	8	<b>141</b>
Pourcentage d'échantillons reçus au jours de suivi							94%	60%	45%	11%	5%	13%	
Nombre total de patients avec des échantillons adressés au CNR							62						
Total des patients avec un suivi complet							6						

Figure 47. Suivi biologique des patients avec un accès grave traités par quinine IV ou un autre médicament *per os* pour l'année 2014.

Id	% Pf	Site	S_G	Trt*1	Trt*2	Date j0	J0	J3	J7	J14	J21	J28
198	4,00	BST	S	Q_iv	0	11/01/14	1					
199	5,00	HGP	S	Q_iv	0	29/01/14	1	1				
200	5,00	FSR	S	Q_iv	0	21/02/14	1					
201	20,00	LHV	S	Q_iv	0	24/03/14	1					
202	12,50	ORL	S	Q_iv	0	28/04/14	1					
203	0,00	PSL	S	Q_iv	0	31/05/14			1			
204	7,00	MLH	S	Q_iv	0	24/06/14	1					
205	1,30	NTE	S	Q_iv	AP	23/07/14	1					
206	2,80	TOU	S	Q_iv	AP	04/08/14	1					
207	14,00	JVR	S	Q_iv	AP	18/08/14	1	1				
208	0,70	NCK	S	Q_iv	0	06/09/14	1	1				
209	1,20	PSL	S	Q_iv	0	17/09/14	1					
210	7,60	JVR	S	Q_iv	0	19/10/14	1					
211	13,00	DJN	S	AL	0	09/01/14	1	1				
212	2,50	PSL	S	AL	0	03/03/14	1	1				1
213	4,00	SBG	S	AL	0	18/03/14	1					
214	3,00	PSL	S	AL	0	28/03/14	1	1				
215	7,50	RDB	S	DHAP	0	03/05/14	1					
216	10,20	RDB	S	DHAP	0	12/05/14	1					
217	4,60	ALY	S	DHAP	0	07/05/14	1					
218	3,00	PSL	S	AL	0	22/05/14	1	1		1		
219	0,01	PSL	S	DHAP	0	04/06/14	1					
220	NA	PSL	S	AL	0	06/06/14	1	1	1			
221	NA	PSL	S	AL	0	18/06/14	1					
222	1,50	PSL	S	AL	0	27/06/14	1					
223	3,18	AVC	S	DHAP	0	04/07/14	1					
224	2,10	PSL	S	AL	0	18/07/14	1	1				
225	34,00	BCT	S	AL	0	03/08/14	1		1			
226	7,00	TNN	S	AL	0	04/08/14	1					
227	3,18	VSG	S	DHAP	0	16/08/14	1	1				
228	23,00	RDB	S	DHAP	0	22/08/14	1	1				
229	7,10	RDB	S	DHAP	0	25/08/14	1				1	
230	7,50	GNB	S	AL	0	23/08/14	1					
231	0,80	BCT	S	AL	0	06/08/14	1					1
232	0,90	PSL	S	AL	0	29/09/14	1					
233	1,20	PSL	S	AL	0	04/10/14	1	1	1			
234	1,70	PSL	S	AL	0	27/10/14	1	1				
235	0,30	PSL	S	AL	0	29/10/14	1	1				
236	5,00	VRS	S	DHAP	0	10/11/14	1					
237	0,54	PSL	S	AL	0	03/12/14	1					
238	13,00	DJN	S	AL	0	09/01/14	1	1				
239	2,50	PSL	S	AL	0	03/03/14	1	1				1
240	4,00	SBG	S	AL	0	18/03/14	1					
241	3,00	PSL	S	AL	0	28/03/14	1	1				
242	7,50	RDB	S	DHAP	0	03/05/14	1					
243	10,20	RDB	S	DHAP	0	12/05/14	1					
244	4,60	ALY	S	DHAP	0	07/05/14	1					
245	3,00	PSL	S	AL	0	22/05/14	1	1		1		
246	0,01	PSL	S	DHAP	0	04/06/14	1					
247	NA	PSL	S	AL	0	06/06/14	1	1	1			
248	NA	PSL	S	AL	0	18/06/14	1					
249	1,50	PSL	S	AL	0	27/06/14	1					
250	3,18	AVC	S	DHAP	0	04/07/14	1					
251	2,10	PSL	S	AL	0	18/07/14	1	1				
252	34,00	BCT	S	AL	0	03/08/14	1		1			
253	7,00	TNN	S	AL	0	04/08/14	1					
254	3,18	VSG	S	DHAP	0	16/08/14	1	1				
255	23,00	RDB	S	DHAP	0	22/08/14	1	1				
256	7,10	RDB	S	DHAP	0	25/08/14	1				1	
257	7,50	GNB	S	AL	0	23/08/14	1					
258	0,80	BCT	S	AL	0	06/08/14	1					1

Figure 48 (a). Suivi biologique des patients traités avec un accès simple pour l'année 2014

Id	% Pf	Site	S_G	Trt*1	Trt*2	Date j0	J0	J3	J7	J14	J21	J28
259	0,90	PSL	S	AL	0	29/09/14	1					
260	1,20	PSL	S	AL	0	04/10/14	1	1	1			
261	1,70	PSL	S	AL	0	27/10/14	1	1				
262	0,30	PSL	S	AL	0	29/10/14	1	1				
263	5,00	VRS	S	DHAP	0	10/11/14	1					
264	0,54	PSL	S	AL	0	03/12/14	1					
265	0,90	HMN	S	AP	0	19/01/14	1					
266	3,34	CMF	S	AP	0	26/01/14	1					
267	0,63	PSL	S	AP	0	15/02/14	1					
268	4,00	LRB	S	AP	0	14/02/14	1					
269	8,00	HMN	S	AP	0	13/02/14	1					
270	6,00	NCK	S	AP	0	18/02/14	1		1			
271	7,60	HMN	S	AP	0	08/03/14	1					
272	1,20	PSL	S	AP	0	01/04/14	1	1				
273	0,70	PSL	S	AP	0	10/04/14	1					
274	11,50	LHV	S	NA	0	10/04/14	1					
275	0,60	PSL	S	AP	0	18/03/14						1
276	1,60	PSL	S	MFQ	0	13/05/14	1					
277	9,50	LHV	S	NA	0	11/05/14	1					
278	3,10	PSL	S	AP	Q_iv	20/05/14	1	1	1			
279	4,70	SDN	S	AP	0	25/05/14	1					
280	0,70	PSL	S	NA	0	01/06/14	1					
281	0,30	PSL	S	AP	0	13/06/14	1					
282	10,00	TOU	S	NA	0	08/06/14	1					
283	6,00	HGP	S	NA	0	18/06/14	1					
284	1,30	PSL	S	AP	0	05/07/14	1	1	1			
285	0,80	PSL	S	AP	0	15/07/14	1					
286	0,23	PSL	S	AP	0	21/07/14	1	1				
287	6,00	SLS	S	AP	0	01/08/14	1					
288	5,75	RMS	S	AP	0	20/08/14	1	1	1			
289	5,00	SAT	S	AP	0	24/08/14	1					
290	4,50	NCK	S	AP	0	24/08/14	1					
291	13,96	SDN	S	AP	0	29/08/14	1					
292	0,02	PSL	S	AP	0	02/09/14	1					
293	7,10	SDN	S	AP	0	04/09/14	1					
294	4,50	BCB	S	AP	0	04/09/14	1					
295	2,80	PSL	S	AP	0	07/09/14	1	1				
296	1,30	PSL	S	AP	0	09/09/14	1	1				
297	NA	PSL	S	NA	0	11/09/14	1					
298	1,70	PSL	S	AP	AL	22/09/14	1	1	1			1
299	4,50	LHV	S	AP	0	20/09/14	1					
300	4,00	ALY	S	AP	0	23/09/2014	1					
301	5,30	JVR	S	AP	0	24/09/14	1					
302	3,10	VSG	S	NA	0	30/09/14	1					
303	4,20	HGP	S	NA	0	02/10/14	1					
304	4,20	AVC	S	AP	0	06/10/14	1					
305	0,20	PSL	S	AP	0	28/10/14	1		1		1	
306	0,01	PSL	S	AP	0	11/11/14	1					
307	0,40	PSL	S	AP	0	20/11/14	1					
308	1,50	PSL	S	AP	0	23/11/14	1		1			
309	0,02	NCK	S	NA	0	21/11/14	1					
310	0,50	PSL	S	NA	0	21/12/14	1					
311	1,33	PSL	S	NA	0	22/12/14	1		1			
Nombre d'échantillons reçus au jours de suivi							112	33	15	2	3	6
Pourcentage d'échantillons reçus au jours de suivi							98%	29%	13%	2%	3%	5%
Nombre total de patients avec des échantillons adressés au CNR							114					
Total des patients avec un suivi complet							2					

**171**

Figure 49 (a). Suivi biologique des patients traités avec un accès simple pour l'année 2014

### 3.4.3 Données de tolérance de l'AS en France

Sur la période du 1/01/2014 au 31/12/2014, 37 déclarations d'effets indésirables (EI) ont été colligés par le groupe expert en charge de la surveillance du développement du médicament sur la France. Les effets déclarés sont au nombre de 43 avec de 1 à 3 EI par malade. Tous ont été résolutifs ou stables dans les limites des informations recueillies. Un décès cependant a été rapporté faisant suite à des troubles cardiaques. A chaque fois l'AS prescrit l'a été dans un contexte de paludisme grave.

Les EI peuvent être classés en deux grandes familles : (i) les états anémiques et (ii) les EI généraux.

#### 3.4.3.1 Les états anémiques

Les états anémiques sont au nombre 28. Basé sur la classification détaillée dans 2 publications du groupe (Blood et EID) la répartition des cas peut se faire de la manière suivante : 4 EI anémique peuvent être classé en profil « classique », 5 en profil « persistant », 10 en profil « PADH » ou anémie tardive post artésunate et 9 de profil indéterminé. Tous patients confondus le nadir d'hémoglobine diagnostiqué a été de 5g/dL. L'incidence de la PADH est au minimum de 35%.

#### 3.4.3.2 Les effets indésirables généraux

Les EI généraux ont été au nombre de 16, touchant tous les organes.

**EI cutanés (4)** : effluvium télogène (1), prurit (1), éruption cutanée fébrile (1), érythème du visage (1).

**EI neurosensoriel (4)** : tremblement (1), hypoacousie (2), l'un des patients avait reçu de la quinine auparavant, dysgueusie (1).

**EI hématologique (hors anémie) (3)** : agranulocytose (1), réticulocytopenie (1), bien que déclarée à la pharmacovigilance celle-ci semble plus être le fait du paludisme lui-même (réticulocytopenie à J3), thrombopénie (1).

**EI cardiaque (2)** : allongement du QT (1). Chez un patient aux antécédents et facteurs de risque cardiovasculaires plusieurs épisodes de fibrillation auriculaire (initialement avec présence concomitante d'une hypokaliémie) et tachycardie ventriculaire suivie de fibrillation ventriculaire sont survenues sous artésunate et fortes doses de catécholamines. Le contexte était celui d'une acidose métabolique profonde dans le cadre d'un accès palustre grave avec défaillance multiviscérale conduisant au décès du patient (1).

**EI hépato pancréatique (3)** : hypoglycémie (1), l'artésunate était instauré en relais immédiat de la quinine, hyperlipasémie à 700UI/L (1), hépatite cytolytique (6N) (1).

**EI néphrologique (1)** : nécrose tubulaire aiguë (1).

Certains des effets secondaires rapportés sont déjà décrits avec l'AS (RCP Guilin). Pour d'autres, l'imputabilité semble faible. L'incidence élevée des phénomènes hémolytiques (différents profils) est confirmée, mais cela ne remet pas en cause l'avantage de l'AS par rapport à la quinine au regard de la gravité des malades. Un fait nouveau semble malgré tout se dégager : celui de la survenue, rare, mais décrite (EID) d'EI d'allure cardiaque (allongement du QT, FA, TV) qui devront dans les mois à venir renforcer l'attention et la surveillance du groupe expert.

Le rapport de synthèse n°5 MALACEF® (artésunate iv) prochainement remis à l'ANSM décrira en détails, l'action du CNR du Paludisme et de l'Equipe INSERM UPMC « Erythrocytes Parasites Physiopathologie » (EPP) du CIMI Camille Roussel, Stéphane Jauréguiberry, Joudia Najid, Eric Kendjo, Liliane Ciceron, Oussama Mouri, Bénédicte Lebrun-Vignes, Marc Thellier et Pierre Buffet

### 3.4.4 Décès déclarés dans la base CNR du Paludisme en 2014, description des cas

En 2014, 11 décès sont rapportés au *CNR du Paludisme* par le réseau de correspondants. Parmi eux, 6 sont des hommes (3 d'origine caucasienne, 1 d'origine polynésienne, 1 d'origine Sud-Américaine (Brésil) et 1 originaire d'Afrique sub-Saharienne) et 5 sont des femmes (4 originaires d'Afrique sub-

Saharienne et 1 d'origine Caucasienne). Parmi eux, 9 ont plus de 40 ans, mais 2 ont moins de 30 ans, 1 jeune fille de 17 ans et un homme de 26 ans. Les âges extrêmes sont de 17 et 85 ans, la médiane est de 61 ans. *Plasmodium falciparum* est l'espèce identifiée pour ces 11 cas. Un des décès correspond à un homme décédé à son arrivée à l'hôpital, le diagnostic ayant pu être confirmé sur un frottis sanguin réalisé juste avant le décès.

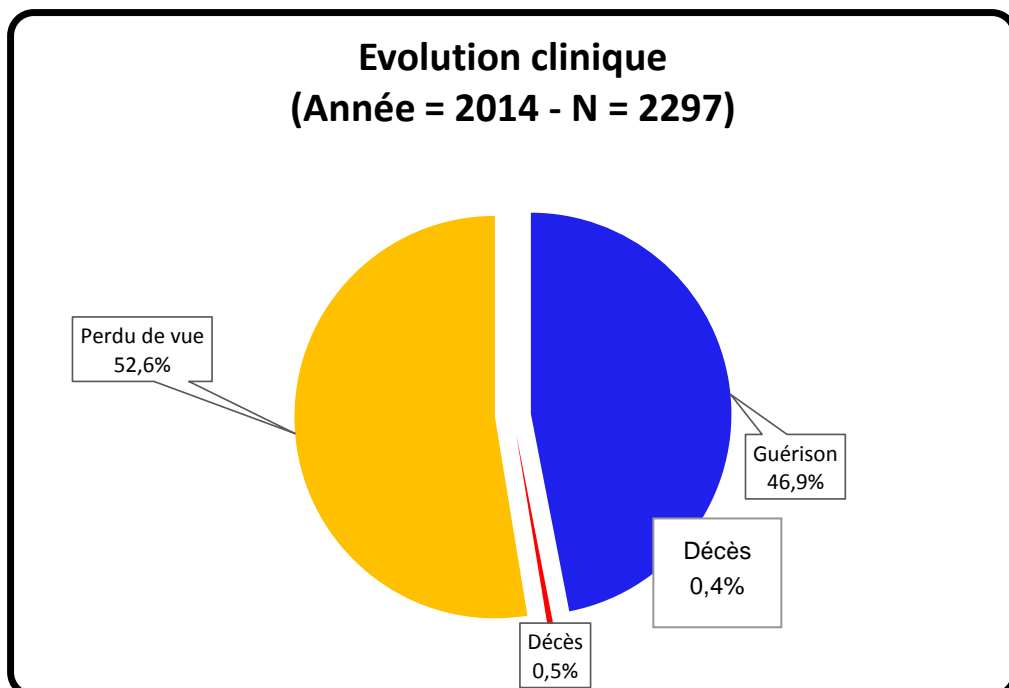


Figure 50 : Evolution clinique des accès palustres, CNR du paludisme, année 2014, n = 2297.

**Cas n°1** Le 10 janvier 2014, une femme de 42 ans, Africaine Nigérienne résidant en France métropolitaine depuis 2011 pour des études supérieures (Master), est retrouvée au sol dans le couloir de l'Hôtel où elle réside depuis peu. Les pompiers conduisent la patiente aux urgences d'un grand hôpital parisien. A son arrivée elle est difficilement stimulable, le score de Glasgow est coté à 10/15, la TA 137/73mmHg, la FC 137 bpm; la température est à 39,1°C. Les pupilles sont en mydriase bilatérale. La famille précise d'assez lourds ATCD médicaux et chirurgicaux, diabète de type II depuis 2011, traité par insuline depuis 2013 avec mauvaise observance; dyslipidémie de type IIa; macroadénome hypophysaire avec exérèse chirurgicale en 2011 plus radiothérapie avec pan hypopituitarisme séquellaire; atrophie optique bilatérale avec cécité complète de l'œil gauche et partielle de l'œil droit; syndrome d'apnée obstructive du sommeil et alpha thalassémie mineure responsable d'une anémie. Le bilan biologique retrouve une acidose métabolique compensée (pH 7.36, PaCO2 27.SmmHg, PaO2 82.2mm HCO3 14 mmol/l, lactates 2,7 mmol/l) associé à un syndrome inflammatoire (CRP 391 ng/l et PCT 32 ng/l), une insuffisance rénale aiguë (créatininémie 255 µmol/l), une fausse hyponatrémie dans un contexte d'hyperglycémie sur décompensation hyperosmolaire du diabète de type 2. Un traitement par insuline IVSE à 5UI/h associé à une expansion volémique est initié. Le scanner cérébral sans injection réalisé est normal, ainsi que la ponction lombaire. Le TDR antigénique à la recherche de paludisme est positif à *Plasmodium falciparum*, la patiente est transférée en réanimation pour la suite de la prise en charge d'un probable accès palustre grave immédiatement traité par artésunate intraveineux plus antibiothérapie probabiliste par Rocéphine et Tavanic. A son admission en réanimation, la patiente est stabilisée, eupnéique au repos sous 5l/min d'O2, l'auscultation cardiaque et pulmonaire est normale, on note cependant une oligurie et des œdèmes bilatéraux des membres inférieurs. L'examen du FGE confirme l'infection à *Plasmodium falciparum* à 0,15% de parasitémie. L'évolution est essentiellement marquée par une dégradation de l'état de vigilance de la patiente, nécessitant son intubation trachéale plus ventilation mécanique le 12 janvier 2014. Le nouveau scanner cérébral avec cette fois ci injection de produits de contraste réalisé le même jour ne retrouve pas d'anomalies. Devant l'absence

d'amélioration clinique à l'arrêt de la sédation, et en dépit de la négativation du FGE le 13 janvier (J3), une IRM cérébrale est réalisée le 14 janvier qui met en évidence un infarctus sylvien gauche total, sur occlusion proximal de l'artère sylvienne moyenne gauche compliqué d'un engagement sous falcoriel et temporal homolatéral réalisant un tableau d'AVC sylvien malin. La thrombolyse et la chirurgie sont récusées dans ce contexte et les mesures de neuroprotection sont majorées, sédation lourde plus VMC et mesures de réanimation adaptées. Un scanner cérébral réalisé le 17 janvier suite à l'apparition de signes de majoration de l'engagement (mydriase gauche) et de signes de décérébration confirme la majoration de l'œdème péri lésionnel. Dans le même temps, la fonction rénale de la patiente se dégrade avec apparition d'un syndrome néphrotique et hématurie microscopique en plus de l'insuffisance rénale, mais son hémodynamique reste stable sans nécessiter de maintenir les amines vasopressives après introduction de l'hydrocortisone. Tous les prélèvements à visée bactériologique reviennent négatifs. L'état clinique reste stable. Devant la persistance d'un coma végétatif et l'absence de passage en état de mort encéphalique, une extubation terminale est réalisée le 23 janvier 2014 et la patiente décède le même jour à 21h40.

**Cas n°2.** Le 26 janvier 2014, une femme de 85 ans, d'origine Africaine, résidant en France métropolitaine, avec des ATCD médicaux de diabète insulino-dépendant compliqué d'une neuropathie diabétique avec des troubles cognitifs et un surpoids important, consulte aux urgences d'un hôpital régional de l'ouest de la France pour une fièvre associée à un ralentissement psychomoteur et une altération de l'état général. Elle est de retour depuis 17 jours d'un séjour de 4 semaines au Cameroun pour visiter sa famille. L'examen TDM et la ponction lombaire éliminent un processus expansif, une hémorragie cérébrale ou une infection méningée bactérienne. Le bilan met en évidence une infection à *Plasmodium falciparum* avec une parasitémie inférieure à 1%. La patiente est hospitalisée et un traitement par Quinine IV avec dose de charge est initié le soir même. Elle présente le lendemain des signes d'insuffisance cardiaque et un élargissement du QRS qui motive la suspension du traitement par la quinine. Le traitement de deuxième intention n'est pas précisé. La patiente se dégrade ensuite très progressivement avec apparition de défaillance d'organes multiples aboutissant finalement à son décès le 18/02/2014, 24 jours après son hospitalisation.

**Cas n°3.** Le 11 mars 2014, un homme de 63 ans, caucasien, expatrié résidant au Bénin depuis 2010, est rapatrié vers le service d'Hépatogastro-Entérologie d'un grand hôpital de l'est de la France pour la prise en charge d'un syndrome infectieux avec ascite et œdème des membres inférieurs évoluant depuis le début du mois de mars. Il n'a pas d'ATCD médicaux ou chirurgicaux remarquables, sa consommation œnologique est estimée à 1 litre de bière par jour. Au Bénin il ne prend aucune médication antipaludique. A son admission l'état général du patient était discrètement altéré, stable sur le plan hémodynamique. Pas de température. Il existe des OMI avec un abdomen distendu, sur épanchement d'ascite, non douloureux à la palpation. L'auscultation pulmonaire est normale et il n'y a pas de troubles neurologiques, score de Glasgow à 15. L'évolution dans le service est cependant rapidement défavorable avec apparition d'une hyperthermie sévère Jusqu'à 40°C. Les divers prélèvements infectieux réalisés ont mis en évidence une septicémie à *Escherichia coli* multi-résistant retrouvé dans le liquide d'ascite et sur des hémocultures. Un frottis sanguin-Goutte épaisse met également en évidence une infection à *Plasmodium falciparum* avec une parasitémie inférieure à 0,1 %. Un traitement antibiotique par Rocéphine + Flagyl est associé à un traitement antipaludique par artemether-lumefantrine per os. L'évolution clinique est pourtant très rapidement défavorable avec apparition d'une détresse respiratoire. Le patient est transféré dans le service de réanimation dans un tableau de défaillance multi-viscérale avec acidose lactique et SDRA aboutissant au décès du patient le 12 mars moins de 48 heures après son hospitalisation.

**Cas n°4.** Le 02 juillet 2014, une femme de 61 ans, Africaine d'origine Ghanéenne, résidant en France métropolitaine depuis 1968, est prise en charge par la Brigade des sapeurs-pompiers de Paris pour une altération brutale de l'état général dans un contexte de fièvre aiguë associée à des signes digestifs (diarrhée, vomissements). Les signes cliniques ont débutés 5 jours auparavant. Elle a comme ATCD médicaux une HTA et une hypercholestérolémie. Elle aurait consulté un médecin en ville, pas de notion de demande de diagnostic biologique. Elle présente à l'arrivée des pompiers une fièvre à 38°5, une hypotension à 80/40 mmHg avec tachycardie et des signes de détresse respiratoire et une altération profonde de l'état général. Le score de Glasgow est à 15. Son état motive son transport via le SMUR en réanimation. Les premiers examens de biologie d'urgence montrent un pH à 7,40, PaCO2 à 26,5 mmHg, PaO2 à 135 mmHg, des Bicarbonates à 16,4 mmol/l avec des lactates

élevés à 3,45 mmol/l et une hémoglobine à 10,9 g/dl. Elle est alors transférée dans le service de réanimation médicale d'un grand hôpital de la région parisienne. Le frottis goutte épaisse est positif à *Plasmodium falciparum* avec une parasitémie à 4 %. Il a pu être établi avec sa famille qu'elle était de retour depuis le 19 juin 2014 d'un séjour au Ghana et qu'elle n'avait pas pris de prophylaxie contre le paludisme. Un traitement par Quinimax IV avec dose de charge est immédiatement instauré. La coproculture est négative. Les prélèvements d'hygiène reviennent positifs à Entérocoque BLSE au niveau rectal. La patiente est arrivée d'emblée anurique avec un DFG (formule MORD) à 11 ml/min. Une expansion volémique relance la diurèse mais elle nécessitera une dialyse le 4/7/2014 sur une acidose métabolique urémique associée à des troubles de la conscience. Elle permettra d'améliorer très nettement l'état neurologique et la fonction rénale de la patiente, elle sera arrêtée le 5/7/2014 après 16h en continu. Le DFG calculé est à 41 ml/min. L'instabilité hémodynamique présente à son arrivée s'amende avec le remplissage mais elle reste polypnéique avec une bonne hématose. Le 5/7/2014 alors que son état respiratoire était stable, la patiente présente un arrêt respiratoire concomitant d'une fièvre à 38.8°C. Un bilan infectieux est réalisé avec hémocultures, LBA et ECBU. L'examen direct du LBA est négatif, l'ECBU revient positif à E. Coli. Elle est mise sous Augmentin et Gentamycine, elle a besoin d'une supplémentation en catécholamines à laquelle est associé un traitement par hémisuccinate d'hydrocortisone. Malgré cela l'état respiratoire de la patiente se dégrade avec un SDRA, PaO2/FiO2 < 200 mmHg avec des opacités alvéolo interstitielles diffuses à la radiographie thoracique. La patiente présente une AC/FA rapide, mal tolérée non réduite par Cordarone 2 ampoules. L'instabilité hémodynamique est majeure, la patiente est passée sous Adrénaline IVSE. Malgré ces thérapeutiques l'état de la patiente se dégrade et elle décède le 6/7/2014 à 6h30, 5 jours après son hospitalisation.

**Cas n°5.** Le 08 juillet 2014, vers 23h00, une femme de 68 ans, caucasienne, expatriée, résidente au Bénin, avec comme ATCD médicaux remarquables une maladie de Lobstein autosomique dominante (avec de nombreuses ostéosynthèses), est acheminée par le SMUR dans une unité de surveillance continue d'un grand hôpital universitaire de l'Ouest de la France pour suspicion d'accès palustre grave. A son admission, elle présente un syndrome fébrile évoluant depuis le 04 juillet, avec obnubilation et difficultés respiratoires. La température est supérieure à 39°C. La tension est à 14/8. L'examen clinique ne retrouve pas de syndrome méningé. Les bruits du cœur sont réguliers avec un souffle systolique à tous les foyers, l'auscultation pulmonaire retrouve un murmure vésical bilatéral et symétrique sans foyer perçu et la SP02 à 99% en air ambiant. L'abdomen est souple et indolore. La patiente est perfusée et transférée à Unité de Surveillance Continue devant une suspicion de paludisme grave dans un contexte de retour de pays endémique, le Bénin, depuis 3 semaines après un séjour de 3 mois sans prophylaxie anti-paludisme. Elle est consciente et coopérante avec un score de Glasgow coté à 13 (Y4, V3, M6). La biologie montre une insuffisance rénale aiguë avec une urée à 13.3 mmol/l, une créatininémie à 94 µmol/l, une bilirubine totale à 80 mg/dl, des GGT à 242 U/l, des PAL à 152 mmol/l, des ALAT à 106 mmol/l, des ASAT à 55 mmol/l et des lactates à 2.9 mmol/l. La recherche de paludisme est positive à *Plasmodium falciparum* avec une parasitémie à 2,2 %. Un traitement par artésunate intraveineux 2.4 mg/kg soit environ 150 mg est initiée. L'évolution est cependant rapidement défavorable puisque, le matin même de son admission, des troubles de conscience récidivants obligent à l'intubation et au passage en secteur de réanimation polyvalente. Surviennent ensuite une insuffisance cardiaque, puis rénale avec oligoanurie qui nécessite l'instauration d'une hémofiltration continue dans la nuit. Le coma est très profond, le score de Glasgow est à 3. Sur le plan hémodynamique, après une période de stabilité initiale va survenir une importante poussée hypertensive suivie d'un collapsus profond dans les premières heures de la matinée du 10 juillet. En dépit de l'administration de fortes doses de NORADRENALINE et d'une hémofiltration continue, la patiente décède le 10 juillet 2014 à 8h00 du matin dans un tableau de défaillance multiviscérale.

**Cas n°6.** Le 14 Juillet 2014, un homme de 63 ans, Africain d'origine Togolaise, résidant en France métropolitaine est rapatrié du Togo vers le SAU d'un grand hôpital parisien pour la prise en charge d'un syndrome occlusif intestinal aigu évoluant depuis 5 jours. Ce patient présente de lourds ATCD médicaux pour lesquels il est déjà suivi dans cet hôpital, en particulier un cancer rénal gauche avec métastases hépatiques grade 3-4 nucléaire de Fürhman, Stade pT3a, découvert en Juillet 2013. Le traitement consiste en une néphrectomie gauche élargie en Juillet 2014 associée à un traitement médical (Sutent relayé par Nexavar le 05 mai 2014 devant la progression des métastases sur le



scanner du 24 avril 2014). Il est par ailleurs drépanocytaire hétérozygote SC (hémoglobine de base: 10 g/dL). Le patient est arrivé au Togo le 7 Juin 2014 pour un voyage dans sa famille, sans prophylaxie antipaludique. Il présente le 9 juillet une douleur abdominale, ayant pour siège l'hypogastre, sans notion de fièvre, de constipation, de diarrhée, de vomissement et sans contage familial. Le 14 juillet, devant l'aggravation des douleurs et l'absence de selles depuis 5 jours un rapatriement sanitaire est décidé. A noter, bonne observance de son traitement de fond par Oracilline suite à la splénectomie. A l'arrivée en France au SAU le même jour, il présente un ralentissement psycho-moteur, une dyspnée et une douleur abdominale diffuse. Le bilan retrouve une insuffisance rénale aiguë fonctionnelle, une anémie à 8,2 g/dL, une cytolysé hépatique modérée à 3N et une hyperlactatémie à 4,8 mmol/L. La recherche de paludisme est positive à *Plasmodium falciparum* à 0,1% de parasitémie. Il est transféré en réanimation médicale pour la prise en charge d'un accès palustre grave le 14/07/2014. Les constantes cliniques à l'admission sont, pouls 116 /min, TA 100/40, FR à 40 /min avec SaO<sub>2</sub> 100 %, taille 158 cm, poids : 56 kg, score de Glasgow : 15, IGS II 48. L'examen physique cardiovasculaire, abdominal et neurologique est sans particularité. Les valeurs des examens complémentaires des gaz du sang, du ionogramme sanguin de la NFS et de l'hémostase montrent pH 7.37 en AA, PCO<sub>2</sub> 28 mmHg, PO<sub>2</sub> 80 mmHg, Saturation 97 %, TCO<sub>2</sub> 17 mmol/l, Sodium, Potassium, Chlorure, Protéines, Glycémie Calcémie sont dans les limites de la normale, Urée 23,5 mmol/l, Créatinine 185 µmol/l, PAL 110UI/l, ASAT 119 UI/l, ALAT 91 UI/l, BiliT 19 µmol/l, Lactates 4,9 mmol/l, Hb 7,9 g/l Hématocrite 21,5 %, Leucocytes 17,5 G/l avec PNN 97 %, Plaquettes 397 G/l, TP et TCA sont normaux. La radiographie de thorax est sans particularités, l'ECG est normal, l'échographie abdominale retrouve la présence d'ascite. Le scanner thoraco-abdominopelvien injecté du 15/07/14 décrit la présence de nodules pulmonaires des pyramides basales droite et gauche associés à un épanchement pleural bilatéral plus marqué à gauche et à une volumineuse ascite avec carcinose péritonéale bien visible en péri hépatique associée avec occlusion du grêle. Des lésions secondaires osseuses diffuses sont également mises en évidence. Un traitement par Artésunate IV 135 mg est débuté le 14/07. Le contrôle du paludisme à J3 le 17/07 est négatif. L'origine de la dyspnée semble multifactorielle (anémie, douleur, abdomen distendu, acidose lactique initiale). Le patient est transféré le 17/07/2014 en oncologie, il est stable sur le plan hémodynamique et eupnéique sous 2L/minutes d'oxygène et morphine. Des soins de confort et l'absence de réanimation invasive en cas d'aggravation sont décidés, en accord avec les oncologues et la famille. Le patient est transféré en oncologie le 17 juillet 2014 pour suite de prise en charge. Il décède le 20 juillet 2014 des suites de son cancer.

**Cas n°7.** Le 02 septembre 2014, une jeune fille de 17 ans, lycéenne, née en France, d'origine Ivoirienne est hospitalisée dans un grand hôpital de la région parisienne pour la prise en charge d'une fièvre aiguë au retour de Côte d'Ivoire. En vacances depuis le 25 juillet 2014 à Abidjan, sans prophylaxie anti-palustre elle présente une fièvre élevée (40°C) débutée le 30 août 2014, mais elle ne consulte pas sur place. Après son retour en France le 02 septembre au matin elle est confuse avec une altération de son état général. Elle consulte aux Service d'Accueil des Urgences à 15h00 le même jour après un épisode de vomissement au domicile. A son arrivée Poids 80 kg ; taille 1,70 m ; IMC = 28, la TA 151/87 mmHg ; FC 130 bpm ; saturation 100 % en AA avec un score de Glasgow à 12, sans signe de localisation neurologique. La biologie montre sur les Gaz du sang en air ambiant, pH 7,43 ; PO<sub>2</sub> 105 mmHg ; PCO<sub>2</sub> 30 mmHg et lactates 4. Dans l'attente des résultats du bilan, survenue d'un arrêt cardio-respiratoire sur asystolie avec inhalation massive avec une expectoration mousseuse très profuse. Récupération d'une activité cardiaque après 2 bolus de 3 mg d'Adrénaline. En post arrêt cardiaque, tachycardie supra ventriculaire à 200/mn. Gaz du sang après ventilation mécanique, pH 7,11 ; lactates 16. Pas de réveil, mydriase bilatérale aréactive. Transfert en réanimation pour suite de la prise en charge. A l'arrivée, TA 104/41 mmHg sous 2 mg/heure d'Adrénaline ; FC 166 bpm; température 40°C ; saturation 97% en FiO<sub>2</sub> ; FR 20/mn. Mydriase bilatérale aréactive, le score de Glasgow est mesuré à 3. Absence de ROT, absence de réflexe du tronc cérébral. Murmure vésiculaire bilatéral, crépitations bilatéraux prédominant à gauche. Bruits du cœur réguliers, rapides, sans souffle audible. Pas de signe d'insuffisance cardiaque. Mollets souples. Pas de signe de choc. Le bilan biologique avec de nouveaux Gaz du sang sous FiO<sub>2</sub> 1, PEP 5 montre pH 7,19 ; PO<sub>2</sub> 136 mmHg ; PCO<sub>2</sub> 50 mmHg ; lactates 6,7 ; bicar 17 NFS : GB 10.300 ; Hb 10,2 g/dl ; VGM 73 ; plaquettes 69.000 TP 63 % ; TCA ratio 1,29 ; fibrinogène 4,05 ; FII 79 % ; FV 85 % ; FVII 55 % Na 134 ; K 3,4 ; bicar 22 ; urée 4,1 ; créat 61 ; bilirubine totale 60 ; bilirubine conjuguée 34 ; ASAT 55 UI/L ; ALAT 43 ; gamma GT 130 ; PAL 113 ; CPK 161 ; LDH 946 CRP 172 PCT 8,53. ECG : rythme rapide, sinusal, régulier. Discret sous décalage en apico latéral du segment ST. Le scanner cérébral et thoraco abdomno-pelvien met en évidence un œdème cérébral majeur, des condensations pulmonaires bilatérales, une splénomégalie, un épanchement du Douglas de faible abondance. Le Frottis goutte épaisse est positif à *Plasmodium falciparum* avec une parasitémie mesurée à 7,6 %. Par

ailleur, Bêta HCG : négatif, Sérologie VIH négative. L'évolution est marquée par une défaillance respiratoire avec un tableau de SDRA, une insuffisance rénale aiguë à diurèse conservée sans critère d'épuration extra rénale et dans la nuit du 02 au 03 septembre, la survenue d'une dysfonction ventriculaire gauche sévère nécessitant l'administration d'adrénaline jusqu'à 2,5 mg/heure. Le traitement a consisté en l'administration d'Artésunate IV associé à une antibiothérapie par Claforan et Flagyl du fait du syndrome inflammatoire biologique, de la présence d'une pneumopathie bilatérale et de la notion d'une inhalation. Sur le plan neurologique : absence de réflexe du tronc cérébral en post arrêt cardiaque, sans sédation. Un 1er EEG le 03 septembre à 5h ne retrouve pas d'activité électrique. L'EEG est contrôlé dans la journée et confirme l'état de mort encéphalique. Décès de la patiente le 03 septembre.

**Cas n°8.** Un homme de 49 ans, Brésilien résidant au Brésil, est retrouvé inanimé le 21 octobre 2014 lors de son passage à Paris après un séjour professionnel au Nigeria du 05 au 10 octobre. Le diagnostic post mortem sur une lame adressée par la bactériologie retrouve *Plasmodium falciparum* avec une parasitémie à 7%.

**Cas n°9.** Le 25 octobre 2014, un homme de 63 ans, caucasien, résidant en France métropolitaine, retour depuis 48 heures (23 octobre) d'un voyage professionnel au Cameroun, consulte aux urgences d'un grand hôpital universitaire du centre de la France pour une suspicion de paludisme. Le patient est employé d'une société d'exploitation pétrolière au Cameroun, il a fait plusieurs allers retours de 3 mois sur place, sans prise de prophylaxie. Il se plaint depuis une semaine d'une asthénie. Il a comme ATCD médicaux remarquables une HTA sur cardiopathie valvulaire avec un rétrécissement aortique modérément serré et un AVC. Au SAU, TA 112/81 FC 137bpm, température 40.5°C, SpO2 99% en air ambiant. L'examen clinique retrouve une asthénie importante avec confusion rendant interrogatoire difficile, un ictère conjonctival et un purpura pétéchial. La biologie objective une infection à *Plasmodium falciparum* avec une parasitémie à 2%, une thrombopénie à 22G/L, et une hyperlactatémie à 2,9 mmol/L. Le traitement par voie intraveineuse n'est pas administré immédiatement car non disponible au SAU et le patient transféré dans le service de réanimation du même hôpital. Lors du transfert le patient fait une brutale chute de tension 69/51 malgré 2L de sérum physiologique. Il est intubé, ventilé et mis sous Noradrénaline. Les gaz du sang montrent un pH à 7,34 P02 97,2 mmHg pCO2 38,2 mmHg HC03 20,1 mmol/L et lactates 3,1 mmol/L, et le reste de la biologie Hb 11g/L, Plaquettes 17 G/L, Leuco 6,4 G/L, Na 134 mmol/L, K 3,3mmol/L, Urée 9,2 mmol/L, Créatinine 110 µmol/L, bilirubine totale 31,mmol/L bilirubine conjuguée 16 mmol/L, ASAT 135 UI/L. L'artésunate intraveineux (204 mg à H0) et la Ceftriaxone sont débutés. Après une période d'amélioration sous ce traitement, son état général se dégrade à nouveau brutalement le 28 octobre avec apparition d'un état de choc oligo-anurique nécessitant un remplissage associé à des doses importantes de catécholamines et une hémofiltration continue. Au plan infectieux, on note un ECBU positif à *E. coli* sensible aux C3G chez un patient déjà sous ceftriaxone et une aspiration trachéale positive à *Staphylococcus méti R* mais sans véritable foyer de pneumonie clinique ou radiologique. Les hémocultures sont restées négatives. La parasitémie était négative à J3. Malgré l'ensemble des thérapeutiques administrées (catécholamines, hémofiltration continue, antibiothérapie à large spectre, traitement anti fongique) le patient décédé le 31 octobre 2014 dans un tableau de défaillance multi viscérale. On retiendra cependant qu'il a présenté à 3 reprises des troubles d'rythme ventriculaire mais sans allongement préalable du QT pour lequel une déclaration a été faite à la pharmacovigilance.

**Cas n°10.** Le 03 novembre 2014, un militaire de 26 ans déployé avec les forces armées française en République Centrafricaine depuis septembre 2014, sans ATCD médicaux et sous prophylaxie par doxycycline 100 mg, consulte au centre médical de terrain (rôle 1 Eufor) pour sensation d'hyperthermie. L'examen clinique est normal, les constantes sont bonnes TA 123/72 pouls 89/min et il est apyrétique (température 36°C). Notion d'entretien des véhicules et de patrouille la veille, sans protection solaire. Après 2 heures de surveillance, le patient est renvoyé dans sa compagnie. Le même jour à 16h50, le patient consulte à nouveau avec cette fois ci une hyperthermie à 39,4°C avec obnubilation, hypotension artérielle et tachycardie. Après transfert immédiat au centre médical de seconde ligne (Rôle 2) à 17h50 l'examen montre une défaillance neurologique rapidement

évolutive, le score de Glasgow est coté à 9/15, et on note une alternance d'agitation importante et de stupeur. La prise en charge comporte, une intubation trachéale avec sédation plus mise sous VMC avec administration d'artésunate intraveineux (180 mg sur 6 minutes) et antibiothérapie probabiliste (ceftriaxone 2 gr). Le 03 novembre à 21h00, apparition brutale d'une tachycardie avec hypotension artérielle et anisocorie Dte>G. Le traitement de l'HTIC est immédiatement entrepris (osmothérapie, penthotal, hypothermie thérapeutique, soutien vasopresseur pour une PAM> 100 mm Hg). Le patient reçoit 2 poches de sang total devant la thrombopénie profonde. Le 04 novembre à 04h00, apparition d'une mydriase bilatérale aréactive signant une HTIC réfractaire malgré les mesures de réanimation. Le patient est rapidement rapatrié selon une procédure de MEDEVAC par voie aérienne (Falcon 900) à partir de 06h30 le même jour. Le vol est marqué par la persistance d'une HTIC réfractaire et une hypokaliémie profonde et une hypernatrémie traitées par l'administration d'un CPA et 2 bolus de 2 mg de Minirin. Le 04 novembre à 15h00, arrivée du patient en réanimation à l'HIA Bégin. A son arrivée sous sédation + curarisation et sous noradrénaline 1 mg/h, la TA est à 90/60 mmHg, la FC à 90 bpm avec des marbrures ; on note également la présence d'un ictère généralisé. La radiographie pulmonaire montre des opacités alvéolo interstitielles bilatérales. L'ECG montre un rythme sinusal avec un sous décalage du segment ST de V3 à V6. La biologie sanguine retrouve pH 7,25, PaCO<sub>2</sub> 44 mmHg, PaO<sub>2</sub> 98,5 mmHg, NFS GB 6820 /mm<sup>3</sup>, Hb 13,3 g/dl, plaquettes 25000 /mm<sup>3</sup>, TP 65 %, INR 1,3, TCA 40,6/31,9, Fibrinogène 4,79 g/l, Urée 14,1 mmol/L, Créat 165 µmol/L, Na 158 mmol/l, K 2,1 mmol/l, Ca<sup>2+</sup> 1,13 mmol/l, protéines totales 50 g/l, ASAT/ ALAT 199/39 UI/l, PAL 185 UI/l, GGT 48 UI/l, LDH 1959 mmol/l, Lipase > 315 UI/l, Bilirubine totale/conjuguée 219/130 µmol/l, CPK 401 UI/l, Troponine HS 1048 ng/l et CRP 211 mg/l. Le FGE est positif à *Plasmodium falciparum* avec une parasitémie mesurée à 8 %. La recherche d'antigènes de légionnelle et de pneumocoque dans les urines est négative, Les hémocultures les prélèvements bronchiques et l'ECBU reviennent négatifs. Le jour de son admission, un scanner cérébral qui met en évidence un volumineux œdème cérébral avec début d'engagement des amygdales cérébelleuses, effacement quasi complet des ventricules et disparition des sillons. Mise en place d'un cathéter de PIC qui met en évidence des valeurs constamment entre 70 et 100 mmHg malgré l'osmothérapie et les bolus de penthotal. Un avis neurochirurgical confirme l'absence d'indication de craniectomie décompressive et de mise en place d'une DVE. L'évolution est marquée par l'apparition dans la nuit du 04 au 05 novembre d'une myocardite nécessitant l'introduction de dobutamine puis le relais par adrénaline ; la majoration rapide de la défaillance hépatique avec apparition d'une insuffisance hépatocellulaire, d'une hypoglycémie profonde, d'une majoration de la cholestase et de l'acidose lactique. Le 05 novembre à 16h30 apparition d'une tachycardie ventriculaire dans un contexte d'hypokaliémie rapidement évolutive avec arrêt cardiaque, une première fois récupéré après 10 minutes de MCE, 3 CEE à 200 joules et adrénaline 2x 1 mg (en sus de l'administration continue à 6 mg/h). A 18h30 le même jour, récurrence d'un arrêt cardio circulatoire. Le patient décède le 05 novembre 2014 à 19h05.

**Cas n°11.** Le 06 novembre 2014, un homme de 57 ans, Caucasien, expatrié, résidant au Ghana depuis 10 ans en voyage dans l'est de la France depuis le 04 novembre 2014, consulte son médecin traitant pour une fièvre associée à des diarrhées. Le patient est en bon état général, il n'a pas d'ATCD médicaux remarquables, il a déjà fait plusieurs accès palustres et ne prends pas de prophylaxie médicamenteuse antipaludique. Il refuse l'hospitalisation proposée par le praticien. Le 15 novembre 2014, il consulte cette fois ci au Service d'Accueil des Urgences de l'Hôpital Général du département pour le même motif. A son admission l'hémodynamique est stable, la température à 39,3°C, mais le patient est désorienté et il présente un purpura pétéchial au niveau du pied droit. Il est transféré initialement dans le Service de Médecine du même hôpital. Le bilan biologique met en évidence une infection à *Plasmodium falciparum* avec une parasitémie 14 % et des lactates à 5,5 mmol/l. Un traitement par QUININE par voie orale est initié. L'évolution est rapidement défavorable avec apparition de troubles de la conscience associée à des signes de choc avec une bradycardie profonde justifiant une intubation orotrachéale et une réanimation par remplissage et adrénaline. Il récupère une bonne hémodynamique et son état de conscience retrouvé permet son extubation. Il est transféré en réanimation de l'hôpital régional. A son admission, le patient présente des signes de choc, il est marbré avec un teint gris, son examen neurologique est adapté, le score de Glasgow est à 15/15, il n'a pas de syndrome méningé ni d'HIC. Sur le plan cardiovasculaire, la TA est à 80/40 mmHg avec un pouls à 90/mn, il n'y a pas de signe de défaillance cardiaque gauche ni droite, l'ECG est en rythme sinusal régulier, sans signe ischémique ni trouble de la conduction. La saturation est à 100 % sous

oxygène à 6 l/mn, pas d'encombrement, pas de foyer à l'auscultation pulmonaire. L'abdomen est souple, dépressible, pléthorique, il n'y a pas d'hépatosplénomégalie palpable, mais on note un ictère. Sur le plan biologique, on retrouve hyperleucocytose à 29 900/mm<sup>3</sup> ; hémoglobine 8,1 g/dl ; plaquettes 15 000/mm<sup>3</sup> ; natrémie à 129 mmol/l ; kaliémie à 6,5 mmol/l ; créatinine 275 µmol/l ; urée 10,4 mmol /l ; acide lactique 16,04 mmol/l ; bilirubine à 39 µmol/l à prédominance conjuguée ; ALAT 228 UI/l ; ASAT 512 UI/l ; PCT à 37,3 µg/l ; haptoglobine effondrée ; TP à 14 % et fibrinogène à 0,9 g/l. Le frottis goutte épaisse retrouve la présence de *P. falciparum* avec parasitémie à 10 %. Sur le plan hémodynamique, l'évolution est rapidement marquée par une défaillance circulatoire nécessitant l'introduction de la NORADRENALINE associée à l'ADRENALINE. On réalise également une expansion volémique massive associant colloïdes, cristalloïdes et albumine. L'acidose métabolique persistante en rapport avec une hyperlactatémie et l'hyperkaliémie motivent la mise en place d'une épuration extra-rénale par CVVHDF. L'épuisement respiratoire du patient justifie la nouvelle intubation oro-trachéale après induction en séquence rapide. L'évolution sera marquée par l'apparition d'un SDRA avec PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> à 61 dans la soirée du 16 novembre 2014. Le traitement par QUININE est poursuivi par voie parentérale. Une antibiothérapie probabiliste à large spectre est débutée (CLAFORAN/GENTAMYCINE/FLAGYL). On note la positivité d'une hémoculture anaérobie avec culture secondairement positive à *Clostridium ramosum*. Un tableau de CIVD nécessite la perfusion massive de produits sanguins labiles avec transfusion de plaquettes, de plasma frais congelé et de fibrinogène. Après 24 heures de prise en charge intensive le patient décède le 17 novembre 2014 dans l'après-midi dans un tableau de défaillance multi viscérale.

### 3.5 Analyse des tendances

Le paludisme d'importation en France métropolitaine a augmenté pour la deuxième année consécutive, en 2014 de +8 % par rapport à 2013. Les cas sont encore à la hausse pour la Côte d'Ivoire et le Cameroun, et on note une très nette augmentation des cas pour la République Centrafricaine, essentiellement due aux cas chez les militaires. Un seul cas est déclaré en provenance des Comores en quasi disparition alors qu'ils semblaient stabilisés autour de 50 cas annuels depuis 3 ans. La part des sujets d'origine africaine reste très élevée, mais on note une augmentation des cas chez les sujets caucasiens, qui n'est pas uniquement liée à l'augmentation des cas chez les militaires. L'évolution des cas graves reste orientée à la hausse (13,8 % contre 12,6 % en 2013), mais la létalité des cas graves n'augmente pas (plus de sujets d'origine africaine dans les cas graves). L'artésunate par voie intraveineuse est maintenant largement utilisée par les urgentistes et les réanimateurs sur tout le territoire, plus de 70 % des accès graves traités par cette molécule, en grande partie grâce au soutien du CNR du Paludisme pour sa mise à disposition, sa distribution via une ATU nominative et sa surveillance. Les recommandations et les actions de prévention doivent être plus ciblées. La chimioprophylaxie qui a largement prouvé son efficacité doit pouvoir bénéficier à tous les patients.

Le système apparaît extrêmement dynamique et réactif comme le démontre la qualité et le volume des informations et des échantillons transmis dans des délais qui s'améliorent significativement de 2006 à 2014. Cependant, cette participation est très dépendante de la bonne volonté des personnes ressources participantes à notre réseau, notamment des biologistes, de leur disponibilité, de leurs moyens et de la logistique dont ils disposent. Un élément crucial pour soutenir cette dynamique réside probablement dans la qualité des informations produites et de leur diffusion à travers différents médias i/ site Voozoo pour les résultats des expertises biologiques et la possibilité de récupérer, pour chaque correspondant, l'intégralité des données saisies ou produites pour son centre, et les éléments de contrôle produits par le CNR du paludisme, qu'il peut utiliser pour la constitution de son dossier de validation de méthodes dans la démarche d'accréditation par le COFRAC ii/ réunion nationale qui a été cette année, déclarée comme programme validant pour le développement personnel continu iii/ visites sur sites iv/ communications orales dans les congrès spécialisés v/ articles produits et vi/ site officiel du CNR du paludisme.

### 3.6 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux

Le CNR participe au réseau EuroTravNet (European Travel Medicine Network) (Dr P Parola) initié par l'International Society of Travel Medicine, collabore avec le laboratoire national anglais (Pr P Chiodini),

le réseau des Instituts Pasteur de surveillance des antipaludiques (Dr. D. Ménard), le réseau WWARN (Dr P. Guérin), les CDC d'Atlanta (Dr Kumar), l'OMS (Dr Pascal Ringwald, Dr Keith Carter). Les données du CNR relative au paludisme en France sont annuellement transmises à l'ECDC (Dr W Van Bortel) et à l'OMS Europe pour enrichir la base CISID (Centralized Information System for Infectious Diseases).

### 3.6.1 Réseau Mondial de surveillance de la résistance aux antipaludiques (WWARN)

Depuis 2008, le CNR, avec ses trois laboratoires (Bichat, IRBA et IPG) participe au réseau international de surveillance de la résistance aux antipaludiques financé par la Fondation Bill et Melinda Gates (WWARN, Worldwide Antimalarial Resistance Network).

### 3.6.2 Réseau de surveillance de la résistance dans le bassin amazonien (RAVREDA)

Depuis fin 2012, le laboratoire de parasitologie de l'IPG est membre du réseau RAVREDA qui regroupe la plupart des pays d'Amérique du Sud et d'Amérique Centrale endémiques pour le paludisme. Ce Réseau Amazonien de Surveillance de la Résistance aux Antipaludiques avait pour objectifs initiaux de : i) renforcer la surveillance des résistances aux antipaludiques dans la région amazonienne et, ii) de définir sur la base des résultats de ses études, les politiques thérapeutiques à mettre en œuvre dans les différents pays. Ces objectifs sont maintenant élargis aux questions du paludisme en général : recueil épidémiologique, stratégie de lutte anti-vectorielle.... Une rencontre annuelle est organisée par l'Organisation Panaméricaine de la Santé (OPS), financée par USAID. Elle a pour objectif de faire le point sur les différentes actions en zone Amérique en termes de lutte contre le paludisme et de partager les données concernant la résistance des plasmodies dans la zone. Un membre du laboratoire participe chaque année à cette réunion conjointement avec un membre de l'ARS Guyane. En 2014, cette réunion a eu lieu le 10 mars à Managua au Nicaragua.

## 3.7 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

### 3.7.1 Surveillance de la résistance de *Plasmodium falciparum* aux dérivés de l'artémisinine : participation du CNR au protocole KARMA

Le CNR du paludisme a participé au projet multicentrique « **KARMA : mapping of the K13-propeller mutations associated with *P. falciparum* resistance to artemisinin** » dont l'objectif est de collecter des isolats de *P. falciparum* en provenance des différentes régions d'endémie palustre et étudier pour ces isolats, la séquence du gène K13 propeller. En effet, il a été associé des mutations au sein de ce gène et une diminution de sensibilité aux dérivés de l'artémisinine en Asie du Sud-Est (Ariey *et al.*). La diffusion de cette résistance moléculaire à l'ensemble des zones d'endémie palustre risque d'entraîner l'inefficacité des derniers traitements antipaludiques disponibles. Ce projet KARMA, porté par l'institut Pasteur du Cambodge, a fédéré 38 équipes de recherche impliquées dans la lutte contre le paludisme : 22 équipes Africaines, 4 équipes d'Amérique du Sud, et 10 d'Asie ainsi que le CNR du Paludisme français et le CNR du Paludisme britannique. Plus de 13500 isolats ont été inclus en tout, dont 1400 isolats collectés par le CNR à partir des prélèvements transmis par les correspondants. Les isolats inclus étaient originaires de différents pays d'endémie, et collectés entre 2012 et 2014 : les manipulations sont terminées, il reste à analyser les résultats obtenus. Ceux-ci seront publiés prochainement.

A molecular marker of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. Ariey F, Witkowski B, Amaratunga C, Beghain J, Langlois AC, Khim N, Kim S, Duru V, Bouchier C, Ma L, Lim P, Leang R, Duong S, Sreng S, Suon S, Chuor CM, Bout DM, Ménard S, Rogers WO, Genton B, Fandeur T, Miotto O, Ringwald P, Le Bras J, Berry A, Barale JC, Fairhurst RM, Benoit-Vical F, Mercereau-Pujalon O, Ménard D. Nature. 2014 Jan 2;505(7481):50-5. doi: 10.1038/nature12876. Epub 2013 Dec 18

### 3.7.2 Evaluation du niveau de résistance aux antipaludiques au Sénégal

L'état-major des Armées en le Service de Santé des Armées Françaises a financé en 2008 la création et le développement d'un laboratoire d'étude de la chimiosensibilité *in vitro* de *P. falciparum* aux antipaludiques à l'hôpital militaire Sénégalais de Dakar, Sénégal (HPD). Deux cadres et 2 techniciens ont été formés sur site pendant 2 mois par 2 personnels du CNR-URBEP-UMR 7278-IRBA. Ce laboratoire est maintenant techniquement autonome et opérationnel. Les données sont validées *in fine* par le responsable du laboratoire de chimiosensibilité du CNR-URBEP-UMR 7278-IRBA. Ce

laboratoire entre dans la démarche du réseau WWARN. Depuis 2009, des études de résistance in vitro et par recherche de marqueurs moléculaires sont réalisées chaque année.

En 2014, 36 prélèvements ont été cultivés avec succès sur les 43 collectés pendant la mission. La prévalence d'isolats résistants in vitro à la chloroquine est de 52,8%, 44,1% à la méfloquine, 30,6% à la déséthylamodiaquine, 16,7% à la doxycycline, 5,9% à la pipéraquline et pyronaridine, 2,8% à la quinine et à la dihydroartémisinine et 0% à la luméfantine. Il est à noter l'augmentation d'isolats de diminution de sensibilité à la déséthylamodiaquine.

Sur 103 isolats collectés (60 pendant la saison 2013-2013 et 43 pendant la saison 2014-2015), 82,3% sont triple mutants pour *pf dhfr* (S108N, N511 et C59R). La mutation *pf dhps* A437G est identifiée dans 47,2% des isolats. Seulement 1,1% des isolats portent la double mutation A437G et K540E. 40,4% des isolats sont quadruple mutants (*pf dhfr* S108N, N511 et C59R et *pf dhps* A437G). 31,4% des isolats présentent l'haplotype CVIET et 3,9 l'haplotype CVMET. 53,5% des isolats présentent la mutation *pf mdr1* Y184F et 6,1% celle N86Y.

12% des isolats présentent une mutation sur le gène K13 alors qu'aucune souche n'en présentait en 2012-2013. Trois nouvelles mutations ont été identifiées : N554H (1,1%), Q613H (1,1%) et V637I (9,8%).

WURTZ N, FALL B, PASCUAL A, FALL M, BARET E, CAMARA C, NAKOULIMA A, DIATTA B, BA FALL K, MBAYE P S, DIEME Y, BERCIOR R, WADE B, PRADINES B. Role of *Pf mdr1* in *in vitro Plasmodium falciparum* susceptibility to chloroquine, quinine, monodesethylamodiaquine, mefloquine, lumefantrine and dihydroartemisinin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2014, 58:7032-7040.

MADAMET M, FALL B, BENOIT N, CAMARA C, AMALVICT R, FALL M, DIONNE P, FALL B B, NAKOULIMA A, DIATTA B, DIEME Y, MENARD D, WADE B, PRADINES B. Limited polymorphisms in K13 gene in *Plasmodium falciparum* isolates from Dakar, Senegal in 2012-2013. *Malar. J.*, 2014, 13, 472.

### 3.7.3 Exploration de cas de paludisme autochtones en Tunisie

Le CNR du Paludisme, site Bichat, a participé à l'exploration de 4 cas de paludisme autochtones survenus de façon concomitante en Tunisie. Quatre cas de paludisme d'aéroport ont été notifiés pour la première fois en Tunisie au cours de l'été 2013. Tous les patients étaient des voisins qui vivent à moins de 2 km de l'aéroport international de Tunis. Ils n'avaient aucune histoire de voyage en zone d'endémie palustre, de transfusion de sang ou d'usage de drogues par voie intraveineuse. Bien que la transmission du paludisme ait cessé en Tunisie depuis 1980, l'infection autochtone par les moustiques anophèles locales a été initialement considérée. Cependant, cette hypothèse de diagnostic a été exclue en raison de prospection entomologique négatif et l'absence de cas de supplémentaires causés par *Plasmodium falciparum*. La présentation clinique était sévère (thrombopénie importante et parasitémie élevée), en raison du retard relativement important dans le diagnostic (moyenne de sept jours). Le CNR du paludisme a confirmé l'origine groupée des cas par génotypage des microsatellites des quatre isolats : les quatre isolats étaient identiques sur les 5 marqueurs analysés. Cela indique la nécessité d'envisager un diagnostic de paludisme pour les employés ou les personnes vivant à proximité des aéroports internationaux et présentant une fièvre d'origine inconnue.

Siala E, Gamara D, Kallel K, Daaboub J, Zouiten F, Houzé S, Bouratbine A, Aoun K. Airport malaria: report of four cases in Tunisia. *Malar J.* 2015 Jan 28;14(1):42. doi: 10.1186/s12936-015-0566-x.

### 3.7.4 Implication du gène *pf crt* dans le niveau de sensibilité à la chloroquine de *P. falciparum* en Guyane

Site: LA-AG

Participants: S. Pelleau, L. Musset, B. Volney, J. Casteras, E. Legrand.

Partenaire: D. Neafsey – Broad Institute, Boston USA. D. Fidock, Columbia University, New York USA

Contribution du CNR: Tout excepté le séquençage complet, l'étude d'association et le travail de génétique inverse.

Le laboratoire de parasitologie/LA-AG a tenté de comprendre comment certains isolats de *P. falciparum* porteurs de l'allèle mutant K76T du gène *pf crt* sont malgré tout sensibles à la chloroquine *in vitro*. L'approche choisie a été la génomique comparative. Cinquante quatre isolats guyanais de *P. falciparum* (chloroquino-sensibles et chloroquino-résistants, tous mutants K76T) adaptés à la multiplication *in vitro* ont été séquencés dans le cadre d'une collaboration avec le Broad Institute. Une analyse d'association GWAS a permis de montrer que seule une mutation en position 350 sur *pf crt* était associée à la chloroquino-sensibilité. En s'appuyant sur la collection d'ADN

parasitaires du LA-AG, nous avons génotypé 580 isolats et avons pu montrer qu'elle est apparue en 2002, s'est répandue rapidement dans la population parasitaire et est aujourd'hui associée à 100% au retour de sensibilité *in vitro*. Dans le cadre d'une collaboration avec le laboratoire de D. Fidock de l'Université Columbia, la mutation C350R a été introduite dans la souche chloroquino-résistante 7G8. Cette modification génétique a entraîné une réversion complète de la résistance ainsi qu'une diminution significative de la sensibilité à la pipéraquline. De façon concordante, les isolats mutés C350R de la collection du LA-AG présentent également une sensibilité diminuée à la pipéraquline. Ceci confirme de façon définitive l'utilité de cette mutation comme nouveau marqueur moléculaire de sensibilité à la chloroquine. Dans la mesure où la pipéraquline n'est utilisée que par les orpailleurs clandestins dans la combinaison thérapeutique dihydroartémisinine-pipéraquline-triméthoprime (Artecom®), ces résultats suggèrent que c'est cette pression exercée depuis 2002 qui a permis de sélectionner la mutation PfCRT C350R et de là, favoriser le retour à la sensibilité à la chloroquine. Un travail d'épidémiologie moléculaire est actuellement en cours sur des isolats de *P. falciparum* provenant de plusieurs pays sud-américains afin de caractériser la dispersion de ces révertants.

### 3.7.5 Epidémiologie du paludisme sur un site d'orpaillage clandestin en forêt guyanaise

Site : LA-AG

Participants: Médecin en chef Sébastien Briolant, Médecin en chef Vincent Pommier de Santi, Médecin en Chef Félix Djossou et Médecin Principal Nicolas Barthes.

Partenaires: DIASS Guyane, ARS de Guyane et CNR Paludisme IPG.

Contribution du CNR: Réalisation de PCR diagnostic.

Une mission d'évaluation de la situation épidémiologique du paludisme en population humaine d'orpailleurs clandestins a été réalisée du 28 mai au 6 juin 2014 sur le site d'Eau-Claire située en forêt primaire à 80 km au sud-est de Maripasoula. Un dépistage actif des infections palustres a été effectué à tout volontaire par test de diagnostic rapide, examens microscopiques (frottis mince et goutte épaisse) et par PCR sur prélèvement capillaire déposé sur papier buvard. La totalité des personnes présentes sur le site a été vue en consultation soit 206 individus.

Les résultats de cette enquête révèlent une hyperendémicité palustre dans cette population (cf. tableau 44) avec 48,5% (n=100/206) de prévalence d'une infection palustre. Parmi les sujets infectés, 40% étaient porteurs asymptomatique de parasites. Les prévalences des infections à *P. falciparum*, *P. vivax* et des infections mixtes étaient respectivement de 44%, 29% et 27%. Devant une suspicion de cas de paludisme, l'automédication était pratiquée par 98,3% des personnes avec une posologie et une durée de traitement inadaptées dans la quasi-totalité des cas. Les ACTs étaient utilisés majoritairement avec l'Artecom® (dihydroartémisinine/pipéraquline/triméthoprime) dans 63,7% des cas, le Coartem® (artémether/luméfántrine) dans 26,7% des cas et la chloroquine dans 10,8% des cas.

Seulement 18,1% (n=37/205) et 21% (n=42/205) des individus interrogés déclaraient utiliser respectivement une moustiquaire ou des répulsifs cutanés. Cette population était également extrêmement mobile.

L'ensemble de ces résultats fait craindre le risque d'émergence de résistance aux dérivés de l'artémisinine même si 26 isolats de *P. falciparum* ont pu bénéficier d'un séquençage du gène K13 qui ne retrouvait aucune des mutations associées à une résistance aux dérivés de l'artémisinine décrites en Asie du sud-est.

**Tableau 44:** Diagnostic parasitologique selon le test utilisé et l'espèce plasmodiale identifiée (N=206)

Tests	Infection unique				Infection mixte		Total	
	<i>P. falciparum</i>		<i>P. vivax</i>		<i>P. falciparum et vivax</i>		n	%
	n	%	n	%	N	%		
TDR	10	4,9	11	5,3	20	9,7	41	19,9
Frottis sanguins	19	9,2	11	5,3	3	1,5	33	16,0
PCR	43	20,9	33	16,0	21	10,2	97	47,1

## 4 Alerte

### 4.1 Procédure d'alerte en cas de détection de phénomène anormal

#### **Procédure aux Antilles et en Guyane**

Au LA-AG, lorsqu'un membre du laboratoire constate un phénomène anormal ou identifie un isolat d'intérêt, il doit le signaler sans délai au biologiste et/ou au responsable d'unité. Ce dernier, au regard des données et des résultats d'analyses disponibles, vérifie l'information, l'évalue et décide de la suite à donner. Si ce phénomène constitue une menace potentielle pour la santé publique, un signalement aux autorités sanitaires est requis.

Il informe alors la PVAGS concernée, le responsable d'unité, le directeur de l'Institut Pasteur de la Guyane ainsi que, dans le cadre d'un CNR laboratoire associé, le coordonateur du CNR, par fax préférentiellement. Lorsque des informations directement nominatives sont nécessaires et demandées par les autorités sanitaires, celles-ci sont transmises par téléphone et/ou à l'occasion de réunions provoquées par l'ARS concernée.

Après que le signalement ait été transmis, le biologiste doit s'assurer de la suite donnée à ce signal et, notamment, de sa transformation ou non en alerte sanitaire. Pour les CNR, si le signalement est transformé en alerte, la direction médicale de l'Institut Pasteur à Paris doit être informée par fax ou par mail.

L'InVS et la DGS sont informés respectivement par la Cire-AG et l'ARS Guyane.

#### **Procédure en métropole**

Au CNR Pôle métropole, lorsqu'un membre du laboratoire décèle une déclaration de cas anormal ou un dossier d'intérêt (échec thérapeutique, interférence diagnostique,...), il le signale au responsable du laboratoire qui évalue l'information et la suite à donner. Si cet élément peut avoir des conséquences de santé publique, les autorités sanitaires sont informées.

Le CNR est en relation avec le Département des Maladies Infectieuses de l'InVS.

### 4.2 Phénomènes ayant fait l'objet d'un signalement ou d'une alerte

#### 4.2.1 En métropole

##### 4.2.1.1 Mésusage d'utilisation d'*Artemisia vulgaris*

Cette année, une alerte a été lancée par un correspondant de notre réseau de surveillance, également membre de la Société de Médecine des Voyages (SMV), concernant la prescription d'*Artemisia* en prophylaxie, avec des conséquences graves pour le patient.

Jeune femme de 18 ans, angevine étudiante dans une grande ville de l'Ouest de la France. Préparation d'un voyage au Togo dans un Centre de vaccination internationale (CVI) d'un CHU régional en mai 2014. A cette occasion, mise à jour des vaccinations et remise d'une ordonnance type, imprimée, comportant la prescription d'atovaquone-proguanil générique et le conseil de consultation en urgence en cas de fièvre après le retour. Séjour au Togo 3 semaines en août 2014 (retour le 22 août), mais substitution de l'atovaquone-proguanil par *Artemisia* en phytothérapie pris du 28 juillet au 28 août. Le 30 août: Asthénie, nausées, vomissements, le 3 septembre: persistance des signes avec aggravation et apparition de fièvre. La patiente consulte à Nantes, un médecin de proximité, recherche de paludisme prescrite le 3 sept, réalisée en laboratoire privé le 4 septembre, positive à *Plasmodium falciparum* avec une parasitémie à 0,34 % avec cytolysse et cholestase associée. Sa mère vient la chercher le jour même à Nantes et l'emmène consulter le médecin de la famille qui prescrit la quinine per os. La quinine n'étant pas immédiatement disponible, substitution de la quinine par *Artemisia* par une infirmière amie de la famille. Devant l'aggravation des signes cliniques, T° 40°C, somnolence, douleurs abdominales diffuses, consultation au service d'accueil des urgences qui objective T° 38,1°C, TA 83/52 mmHg, FC 107/min, FR 16/min et SpO2 98% en air ambiant. Le score de Glasgow est à 15/15. La biologie montre Glycémie capillaire 0,85 g/l, TP 61% – Facteur VII 44%, FGE positif à *P. falciparum* parasitémie 5,7%, Hb 12,7 g/dl, ASAT & ALAT 2N GGT 10 N, Bilirubine totale 30 µmol/l, Lactates 3,8 mMol/l, Plaquettes : 35 giga/l, ECG rythme sinusal, QRS fins, QT corrigé 390 ms. Après mise en route de la quinine IV, la patiente est transférée en



réanimation du même hôpital. L'évolution est initialement rapidement défavorable avec en dépit du remplacement de la quinine par l'artésunate IV, un état de choc avec polypnée et oligurie qui va motiver l'intubation trachéale avec ventilation mécanique après sédation et la mise en route d'un traitement par amines vasopressives. L'amélioration est ensuite progressive, clinique et parasitologique. Un relais per os par Artémeter-Luméfantrine est instauré et la patiente peut sortir à J6 du diagnostic, avec cependant nécessité d'une prise en charge psychologique suite à son passage en réanimation. Une déclaration pour mésusage d'*Artemisia* est complétée et adressée en pharmacovigilance. Il existe une indication homéopathique d'*Artemisia vulgaris* sur les douleurs des règles, une demande de précision sur la non indication dans le paludisme dans la notice information vis-à-vis des pharmaciens lors de la délivrance est souhaitable.

#### Actions menées :

Une recherche par mot clés sur ce médicament est réalisée dans la base du CNR du Paludisme pour la période 2000- 2014 et on retrouve 10 sujets traités en prophylaxie avec *Artemisia* (n=3 en 2014) à Angers, Bordeaux, Grenoble et Paris plus trois traités par phytothérapie sans plus de précisions. Ils sont tous caucasiens et plutôt jeunes (7 hommes pour 3 femmes, pas différent du ratio observé habituellement chez les caucasiens). Le cas clinique décrit dans ce rapport est présenté en novembre lors de la réunion nationale du CNR du Paludisme (DPC). Les correspondants du réseau sont incités à faire une déclaration systématique en Pharmacovigilance des cas de mésusage. Une mention "ne convient pas pour la prévention du paludisme" sur les médicaments homéopathiques à base d'*Artemisia* distribuée en France n'est pas encore obtenue.

En novembre 2014, le Conseil d'administration de la SMV a adressé un courrier à l'association Bretagne Outdoor, organisatrice du raid "la Sénégazelle" et parallèlement a informé l'ANSM de l'usage de l'*Artemisia* en prévention du paludisme prôné par cette association. Cette action a aboutie à la décision du 18 février 2015 portant suspension de la mise sur le marché à titre gratuit ou onéreux, de la distribution, de la fabrication, de la détention en vue de la vente ou de la distribution à titre gratuit, de l'importation, de l'exportation, de la publicité du produit dénommé *Artemisia* de la société ORONAT et mis à disposition notamment par l'association « Bretagne-Outdoor.

Cette décision est accessible sur le site de l'ANSM dans la rubrique "Décisions"<sup>5</sup>

Le CNR du Paludisme s'inscrit dans cette démarche et demande aux membres de son réseau d'informer largement les voyageurs sur le mésusage d'*Artemisia* en prévention ou en traitement du paludisme, ce produit pouvant être soutenu sur Internet ou parfois par des professionnels de santé comme dans le cas clinique décrit plus haut.

#### **4.2.1.2 Paludismes autochtones**

Un cas suspect « autochtone » de paludisme à *P. falciparum* de retour d'Italie a été signalé à l'InVS par la DT-ARS 84. Il a été impossible en l'absence de coopération entière de la patiente de valider les informations d'exposition en Italie. Ainsi en l'absence d'information plus solide, ce cas n'a pas été retenu comme paludisme autochtone et n'a pas été signalé aux autorités italiennes.

Un autre cas de paludisme autochtone à Aix en Provence a été signalé par la DT-RAS13. Après enquête, il s'agissait d'un retour non déclaré en Guinée Conakry.

Déclaration de 2 cas de paludisme « de colis » ou « aéroportuaires » survenus dans le département 92 l'été 2014. Les déclarations sont produites dans le même hôpital.

**Cas n°1.** Il concerne un patient de 40 ans d'origine Mauritanienne, né en Mauritanie et résidant en France en Ile de France. Le dernier voyage en zone d'endémie remonterait à l'été 2012 en Mauritanie. Il est hospitalisé le 30 juillet au CH Régional pour une fièvre avec asthénie et vomissements ayant débutés le 23 juillet. Le diagnostic d'infection à *P. falciparum* avec une parasitémie mesurée à 0,5 % est posé le jour même. Il s'agit d'un accès simple avec des vomissements traité par quinine IV, relayé à J3 par atovaquone-proguanil. Le patient sort de l'hôpital à J4 du début du traitement et le contrôle à J8 est négatif. Il ne travaille pas dans ou à proximité d'un aéroport, ni dans un établissement de soins. Il n'a pas subi d'intervention chirurgicale, ni bénéficié d'une transfusion sanguine ou été victime d'accident d'exposition au sang dans les 3 mois précédents. Ce patient a déjà eu des accès palustres, le dernier en 2012. Le patient affirme ne pas être retourné au pays depuis 2 ans, mais il a été cherché des amis arrivant du Sénégal début juillet à Orly (pas de date précise). Il a postulé à Orly pour un

---

<sup>5</sup> <http://ansm.sante.fr/Decisions/Injonctions-decisions-de-police-sanitaire-interdictions-de-publicite-Decisions-de-police-sanitaire> voir décision du 18 février 2015

emploi. Il reçoit fréquemment des personnes (amis, familles, voisins) de retour de zone d'endémie avec des colis et des bagages. D'après l'investigateur de l'InVS le questionnaire a été très difficile du fait de la barrière de la langue et de sa situation administrative irrégulière.

**Cas n°2.** Il concerne un patient de 34 ans, né à Lomé, Togo de mère Ivoirienne et de père Français caucasien et résidant en France en Ile de France. Le dernier voyage en zone d'endémie remonterait à l'été 2012 en Côte d'Ivoire. Il est hospitalisé le 19 août au CH Régional pour une fièvre ayant débutée le 16 août. Le diagnostic d'infection à *P. falciparum* avec une parasitémie mesurée à 2,0 % est posé le jour même. Il s'agit d'un accès simple sans vomissements traité par atovaquone-proguanil. Le patient sort de l'hôpital le lendemain et le contrôle à J7 est négatif. Il ne travaille pas dans ou à proximité d'un aéroport, ni dans un établissement de soins. Il n'est pas toxicomane, n'a pas de tatouage ou de piercing, ni subi d'intervention chirurgicale, ni bénéficié d'une transfusion sanguine ou été victime d'accident d'exposition au sang dans les 3 mois précédents. Ce patient a déjà eu des accès palustres, le dernier en 2010 en Côte d'Ivoire. Il affirme ne pas être allé en zone d'endémie depuis 2 ans, mais il a accompagné des passagers aux aéroports de Roissy et d'Orly et a reçu des colis de nourriture de Côte d'Ivoire (pas de dates précises).

L'expertise du CNR pour déterminer si les souches étaient apparentées afin d'arbitrer sur un lien entre ces 2 événements géographiquement proche et dans une période de quelques semaines a permis de conclure que les isolats étaient différents. Les 2 événements sont donc considérés comme indépendants.

Pour ces 2 cas, même si un paludisme à transmission autochtone reste possible, transmis par un anophèle infectieux acheminé par voie aérienne dans l'avion ou dans les bagages des passagers transportés, un accès palustre de survenue tardive est une possibilité plausible chez ces 2 sujets qui ont des ATCD d'infection palustre en 2010 et 2012.

#### 4.2.1.3 Gestion du risque d'infection par le virus Ebola

Au cours de l'année 2014, à la faveur de l'extension de l'épidémie de la fièvre virale hémorragique due au virus Ebola, nous avons été interrogés par les correspondants vis-à-vis de la transmission des prélèvements sanguins au CNR du paludisme. Afin de respecter la réglementation relatifs aux agents infectieux de classe 3, et afin d'assurer la protection du personnel du CNR du paludisme, nous avons demandé à nos correspondants de s'assurer que les prélèvements transmis n'étaient pas à risque. Un message d'alerte a été mis en ligne sur la page d'accueil du site de déclaration Voozadoo à l'attention des correspondants, leur demandant pour les patients ayant séjournés dans les pays touchés par l'épidémie (actualisation sur le site de l'InVS), de nous adresser les prélèvements à expertiser qu'après avoir obtenu l'assurance que le diagnostic de co-infection par le virus Ebola était écarté, et de le préciser sur la feuille de transmission accompagnant le prélèvement.

Message sur le site de déclaration des cas de paludisme : « Pour les pays ayant rapportés des cas de maladie à virus Ebola, actuellement : Sierra Léone, Guinée, Libéria, Nigéria, Mali et RDC (province de l'équateur), il est expressément demandé aux correspondants du CNR du Paludisme de ne pas adresser les échantillons de cas étiquetés « suspects » ou « possibles » (cf définition de l'InVS dans Contacts & Informations), tant que le diagnostic n'a pas été formellement écarté.

Il est donc impératif lors de l'adressage d'un échantillon au CNR de préciser sur la feuille d'envoi le pays d'endémie visité à l'origine de l'accès palustre. S'il s'agit d'un des pays où sévit l'épidémie d'Ebola, merci d'ajouter la mention « Diagnostic d'Ebola écarté ».

Vous ne devez donc pas adresser d'échantillon pour lequel ces informations ne seraient pas disponibles. En l'absence de ces informations, merci de conserver les échantillons à +4°C et de différer l'envoi jusqu'à ce que les informations aient été obtenues.

Les échantillons éventuellement adressés dans un des laboratoires du CNR du Paludisme sans ces informations seront conservés à +4°C dans nos laboratoires jusqu'à ce que la situation ait été précisée. »

Par ailleurs, lors de la réunion nationale du CNR du Paludisme, le 17 décembre 2014, nous avons fait une session spécifique d'information sur l'épidémie de la fièvre virale due au virus Ebola, selon les informations et éléments connus à ce moment.

#### 4.2.2 Aux Antilles – Guyane

Pour l'année 2014, aucun phénomène particulier n'a fait l'objet d'une alerte.

## 5 Activités d'information, de formation et de conseil

### 5.1 Enseignements, formations aux professionnels de santé, accueil de stagiaires

#### 5.1.1 Pôle métropole

Nombreux stagiaires sont accueillis : externes en Pharmacie missionnés sur le CNR du Paludisme, étudiants D1, M1, M2, thèse.

Plus spécifiquement, ont été accueillis et encadrés par S Houzé en 2014 : Cylia Grabi, L3 Sciences Vie et de la Terre, mention Biologie moléculaire cellulaire et Physiologie, Université Paris Est Créteil, Faculté des Sciences et Technologie ; Merime Béjaoui, M2 Médicaments et Autres Produits de Santé, Biologie cellulaire, microbiologie et innovations thérapeutiques, Faculté de pharmacie, Université Paris Sud ; Rémi Diesler, L3 Santé, Université Paris Diderot.

Participation de J Le Bras à l'enseignement des formations de Master 1 santé Paris 5, Master 2 microbiologie Paris 6 et Paris 11, DIU Médecine tropicale et santé internationale, DIU Médecine du voyage et santé des voyageurs, DIU Stratégies thérapeutiques en pathologie infectieuse, DIU Médecine tropicale et humanitaire Rennes, DU Pharmacie humanitaire Caen, Capacité Ile de France de Médecine tropicale ;

Participation de S Houzé à l'enseignement en parasitologie du 1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> cycles des études pharmaceutiques, Paris Descartes, à l'enseignement des formations de Master 1 santé Paris 5, Master 2 microbiologie Paris Sud ; Master 2 Pharmacologie clinique et préclinique, Paris Descartes.

Participation de S. Houzé et de M. Thellier, au DES de biologie médicale, module parasitologie, université Paris Diderot et Paris Descartes ;

Participation de J. Clain à l'enseignement en parasitologie du 1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> cycles des études pharmaceutiques, Paris Descartes, à l'enseignement des formations de Master 1 Santé Paris 5 et Paris Diderot, Master 2 UPMC .

Participation de M Thellier:

- Parasites et transfusion CIUTS 11 janvier 2014, Paris, France

Participation de S. Jauréguiberry:

- DIU thérapeutique anti infectieuse de l'Ouest mars 2014, Rennes : Actualités des traitements anti paludiques

- DIU thérapeutique anti infectieuse, Paris Bichat : Cas de parasitologie février 2014

Participation de B Pradines aux cours de Master 2<sup>ème</sup> année – Maladies transmissibles – Pathologies tropicales, module : Emergence et ré-émergence des maladies infectieuses, entomologie médicale – Faculté de Médecine de Marseille - Aix-Marseille II, *Génétique de Plasmodium et résistance aux antipaludiques*.

#### 5.1.2 Pôle Antilles-Guyane

##### Enseignement

En cette année de transition entre le départ en retraite de B. Carme et la création de l'Université de Guyane, aucun DU n'a été organisé pour l'année scolaire 2013/2014.

##### Formation aux professionnels de santé

Chaque début de semestre, le LA-AG sensibilise et fait des rappels sur le paludisme aux internes affectés dans le laboratoire de parasitologie-mycologie du centre hospitalier de Cayenne.

##### Accueil de stagiaires

En 2014, deux étudiantes ont été accueillies au sein du laboratoire de parasitologie :

- Mlle Marie Loiseau. IUT de Laval, Département Génie Biologique, BTS Bioanalyse et contrôles. *Etude de la diversité génétique autour du gène pfcrt de P. falciparum associée à la résistance à la chloroquine en Guyane*. Avril-Juin 2014. Onze semaines. Encadrée par Stéphane Pelleau.
- Mlle Nancy Bazile. Université des Antilles et de la Guyane, Licence 3 Biologie et Biochimie. *Polymorphismes des gènes de résistance aux antipaludiques (pfdhps/pfdhfr) chez P. falciparum en Guyane*. Avril-Mai 2014. Cinq semaines. Encadrée par Eric Legrand.

## 5.2 Guides élaborés

Les détails de la collaboration entre le LA-AG et ses partenaires sont formalisés au sein de modalités pratiques de la surveillance du paludisme en Guyane. Ces modalités sont propres à chaque partenaire actif participant à la surveillance du paludisme aux Antilles-Guyane. Elles sont définies et approuvées par l'ensemble des partenaires, au cours des réunions de sensibilisation et d'échange. Leurs révisions périodiques sont rappelées par le système documentaire du laboratoire mis en place dans le cadre de la démarche d'accréditation selon la norme ISO 15189.

## 5.3 Modalités de diffusion des données de surveillance et production du CNR

### Résultats d'analyse

Les résultats des différentes analyses sont systématiquement envoyés par courrier aux partenaires du laboratoire du secteur France Sud ainsi qu'aux partenaires du Pôle Antilles-Guyane. Pour les trois laboratoires du Pôle Métropole, un rapport d'analyse est accessible en ligne aux correspondants ayant fait la déclaration du cas : ce rapport a fait l'objet d'une révision avec l'ajout d'éléments de traçabilité pour répondre aux attentes de nos correspondants. Le rapport généré avec les résultats obtenus avec l'isolat transmis au CNR du paludisme, peut être inclus dans le dossier médical du patient, et les biologistes peuvent l'utiliser comme preuve d'expertise pour les dossiers de validation de méthode, dans la démarche d'accréditation du COFRAC.

### Rapport d'activités – Productions du CNR

Plusieurs **sites internet** sont utilisés pour communiquer avec les partenaires, les professionnels de santé et le grand public. Ils sont listés dans le tableau ci-dessous (Tableau 38).

**Tableau 38.** Outils de communication utilisés pour la diffusion des données de surveillance, les productions et les activités du CNR Paludisme.

Institution	Date création	Adresse	Actualisation	Dernier rapport
		<a href="http://www.cnrpalu-france.org/">http://www.cnrpalu-france.org/</a>		
		<a href="http://www.imea.fr">http://www.imea.fr</a>		
Institut Pasteur à Paris		<a href="http://www.pasteur.fr/fr/sante/cnr-ccoms">http://www.pasteur.fr/fr/sante/cnr-ccoms</a>	Annuelle	2012
Institut Pasteur de la Guyane	2008	<a href="http://www.pasteur-cayenne.fr">http://www.pasteur-cayenne.fr</a>	En cours	2011
Institut Pasteur de la Guyane	2012	Page Facebook	Plusieurs fois par semaine	

Une **rétro-information** est également organisée pour les partenaires antillo-guyanais sous forme de bulletin qui a pour objectif de présenter :

- (i) le niveau de participation de chaque partenaire afin d'améliorer la représentativité des échantillons reçus ;
- (ii) le niveau de chimiorésistance du paludisme ;
- (iii) les actions et projets menés par le LA-AG.

La périodicité de ce bulletin est annuelle. Le dernier bulletin paru est celui concernant l'année 2014 (cf. Annexe 7). Il est très largement diffusé par voie électronique à nos partenaires (CDPS, Organisation Panaméricaine de la Santé, Cire-AG, ARS, InVS, médecins de ville...).

## 5.4 Activités de conseil aux professionnels

Les appels téléphoniques sont réceptionnés par les responsables du LA-AG entre 8h et 18h du lundi au vendredi. Le volume de cette activité est en moyenne d'un appel par mois. Une adresse mail propre au CNR a également été créée. Le volume de cette activité est en moyenne de cinq mails par mois.

Le pôle métropole s'organise de façon à réceptionner les emails sur une adresse propre au CNR. Une ligne téléphonique est dévolue pour répondre aux médecins et pharmaciens (BCB, PSL). Le site PSL répond à toutes les demandes d'informations et de conseils concernant la distribution et l'utilisation de l'artésunate IV.

Au cours de ses actions de sensibilisation, le LA-AG en profite pour échanger avec les professionnels sur les différentes méthodes de diagnostic et les différentes actions à mettre en place dans le cadre du contrôle et de l'élimination du paludisme en Guyane.

Le CNR a participé :

- à la création d'une ligne ouverte (01 40 25 88 99) et d'un site Internet (en préparation avec l'IRBA Marseille), actuellement, les rapports du CNR du Paludisme sont téléchargeables sur les sites : [http://www.med.univ-angers.fr/service\\_serveur/invite/anofel/](http://www.med.univ-angers.fr/service_serveur/invite/anofel/) et <http://www.imea.fr>
- dans des cas complexes, au conseil personnalisé sur les recommandations prophylactiques en relation directe avec les professionnels de santé (médecins et pharmaciens) ;
- à l'information directe des centres de vaccination et de conseil aux voyageurs, aux enseignements de médecine tropicale, médecine du voyage et médecine humanitaire.

## 5.5 Activités de conseil à destination du public

En 2014, alors que l'épidémie de Chikungunya commençait sur l'île de Cayenne, le LA-AG a organisé une activité de sensibilisation aux maladies vectorielles et aux moyens de protection à destinations des 5-6 ans.

Le Dr Marc Thellier a participé à l'émission de Claire Hédon, priorité Santé à RFI pour la journée nationale du Paludisme.

## 5.6 Activités d'expertises auprès des autorités sanitaires

### 5.6.1 Régionales : Guyane

Depuis mai 2013, l'ARS s'est officiellement engagée dans la rédaction d'un plan de contrôle et d'élimination du paludisme en Guyane pour la période 2015-2018.

Le premier objectif était de définir des recommandations visant à obtenir un contrôle du paludisme sur l'ensemble du territoire de la Guyane. Ainsi, plusieurs groupes d'experts ont été constitués. Le laboratoire de parasitologie/LA-AG a coordonné les groupes diagnostic et thérapeutique. En 2014, cette activité a monopolisée les membres du LA-AG de façon non négligeable (Tableau 47). Ces recommandations sont finalisées exceptées celles traitant de la question du paludisme en zone d'orpaillage. Des discussions sont toujours en cours entre les différents ministères (santé, intérieur, défense et affaires étrangères) et les partenaires internationaux, notamment le Brésil et le Suriname. Sur cette épineuse question, le groupe d'experts n'a pas été ouvertement sollicité.

Une fois les recommandations définies, il sera nécessaire de les décliner en plan d'actions en fonction des moyens et des priorités qui seront définis par les membres du comité de pilotage. Ce comité regroupe différentes institutions (préfecture, ARS, conseil général, forces armées de Guyane notamment).

**Tableau 39.** Agenda des réunions des groupes de travail en vue de l'élaboration d'un plan de lutte contre le paludisme en Guyane.

Date	Thématique	Participation LA-AG
01 juillet 2014	Lutte anti-vectorielle	
03 juillet 2014	Surveillance du paludisme	x
04 juillet 2014	Thérapeutique	x
08 juillet 2014	Diagnostic	x

09 juillet 2014	Lutte anti-vectorielle	
10 juillet 2014	Recherche opérationnelle	x
16 juillet 2014	Thérapeutique	x
18 juillet 2014	Plénière	x
21 juillet 2014	Surveillance du paludisme	x
03 septembre 2014	Action sur les foyers de transmission de l'Oyapock	x
14 octobre 2014	Diagnostic	x
17 octobre 2014	Plénière	x
21 octobre 2014	Préparation du comité de pilotage	x
24 octobre 2014	Comité de pilotage	x

---

## 5.6.2 Nationales

Le CNR a participé :

- à l'élaboration des recommandations pour les voyageurs suivant la surveillance des souches étudiées au CNR du Paludisme par sa participation aux travaux du Comité des maladies liées aux voyages et des maladies d'importation (HSCP, CMVI) ;
- au groupe de travail diligenté par la Direction Générale de la Santé sur l'actualisation des recommandations chimioprophylactiques pour les voyageurs à destination de l'île de Mayotte ;
- aux cellules d'aide à la décision sur le risque de paludisme transfusionnel par les produits sanguins labiles organisées par l'ANSM.

## 5.6.3 Internationales

### 5.6.3.1 Relations avec l'Organisation Panaméricaine de la santé (OPS)

En janvier 2014, le laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de la Guyane a été nommé centre collaborateur OMS pour la résistance aux antipaludiques. Le point focal de ce centre est Lise Musset.

Dans le premier programme de travail 2014-2018, deux grands axes de coopération ont été définis conjointement avec l'OPS :

- La contribution à la surveillance des résistances,
- Le développement des capacités techniques dans les pays en éprouvant le besoin.

#### **Activités de formation**

Ainsi en décembre 2014, deux personnes, une technicienne, un chercheur provenant de la Faculté de médecine de Paramaribo au Suriname sont venues observer les conditions de culture des parasites. Elles reviendront courant juin 2015 pour se former à la technique RSA.

#### **Activités de surveillance**

En novembre/décembre 2014 nous avons également eu à génotyper 73 isolats de patients suivis après traitement par artésunate dans l'objectif de confirmer ou non une diminution de l'efficacité thérapeutique des dérivés de l'artémisinine au Guyane. Parmi les 73 isolats analysés, aucune mutation n'a été retrouvée dans la région du site actif de la protéine K13.

#### **Activités d'expertise**

L'OPS nous a également sollicités pour des activités d'expertise :

- **Mars 2014**, Panama city : *Consultation régionale sur le futur plan global de lutte contre le paludisme 2016-2025 (GTS). Consultation technique concernant plus particulièrement l'espèce P. vivax. Consultation régionale sur la mise en œuvre de cette stratégie de lutte (priorité, financement, collaborations... - GMAP2)*. L'enjeu global de cette consultation était de discuter la stratégie technique globale de lutte contre le paludisme 2016-2025 ainsi que les moyens qu'il sera nécessaire de déployer pour atteindre les objectifs fixés.

- **Novembre 2014**, Paramaribo : *Plan d'action pour l'endiguement et l'élimination de la résistance aux dérivés de l'artémisinine en Amérique du Sud*. L'objectif était de discuter autour du plan mis en place en Asie du Sud Est et de voir comment il est transposable ou non à la situation sud américaine du plateau des Guyanes. Cette réunion était aussi l'occasion de faire le point sur l'état de la résistance aux dérivés de l'artémisinine sur le plateau des Guyanes. Les deux études de confirmation du Suriname et du Guyana montrent l'absence de patient positifs à J3 et l'absence de mutations au niveau du gène K13. Il semblerait donc au final que la résistance ne soit pas encore prépondérante dans la région.

### 5.6.3.2 Relations avec l'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)

L'ECDC a convié le CNR à une réunion internationale sur les contrôles de qualité externe pour le diagnostic du paludisme, en février 2013 à Stockholm. L'organisation d'un contrôle de qualité externe entre les CNR de chaque état européen a été proposée.

## 6 Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR

### 6.1 Travaux de recherche

#### 6.1.1 Evaluation de nouveaux antipaludiques

Le CNR Paludisme met sa méthodologie et ses isolats au service de chimistes pour valider l'effet antipaludique *in vitro* de nombreuses molécules.

IBRAHIM N, IBRAHIM H, DORMOI J, BRIOLANT S, **PRADINES B**, MORENO A, MAZIER D, LEGRAND P, NEPVEU F. Albumin-bound nanoparticles of practically water-insoluble antimalarial lead greatly enhance its efficacy. *Int. J. Pharm.*, 2014, 464:214-224.

KUMAR K, **PRADINES B**, **MADAMET M**, **AMALVICT R**, KUMAR V. 1H-1,2,3-triazole tethered mono- and bis-ferrocenylchalcone- $\beta$ -lactam conjugates: Synthesis and antimalarial evaluation. *Eur. J. Med. Chem.*, 2014, 86:113-121.

NAVARRO M, CASTRO W, **MADAMET M**, **AMALVICT R**, **BENOIT N**, **PRADINES B**. Metal-chloroquine derivatives as possible anti-malarial drugs: evaluation of anti-malarial activity and mode of action. *Malar. J.*, 2014, 13, 471.

KUMAR K, **PRADINES B**, **MADAMET M**, **AMALVICT R**, **BENOIT N**, KUMAR V. 1H-1,2,3-triazole tethered isatin-ferrocene conjugates: Synthesis and in vitro antimalarial evaluation. *Eur. J. Med. Chem.*, 2014, 87:801-804.

Le bleu de méthylène est actif *in vitro* sur des isolats de *P. falciparum* et *in vivo* sur des souches murines de *Plasmodium*. D'autre part, des études ont montré que le bleu de méthylène pouvait augmenter l'activité *in vitro* des dérivés de l'artémisinine et de certaines quinolines, comme la quinine, la chloroquine ou la méfloquine. L'association du bleu de méthylène avec l'artésunate est plus efficace dans le traitement des accès non compliqués de paludisme que celle avec l'amodiaquine ou la chloroquine. Cependant, le bleu de méthylène utilisé dans ces études était de qualité chimique standard, ce qui en fait une molécule impropre à une utilisation à long terme (présence de métaux à des doses supérieures aux seuils de toxicité et donc impropre à la consommation). Depuis peu, Provence Technologies synthétise par un nouveau procédé (brevet) un bleu de méthylène associé à des traces de métaux nettement inférieures aux limites légales dont l'évaluation de l'activité antipaludique *in vitro* et *in vivo* est en cours. Ce bleu de méthylène protège du neuropaludisme dans un modèle murin de neuropaludisme.

Les statines inhibent la 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase et ont été largement étudiées en relation avec l'athérosclérose qui est une atteinte inflammatoire de l'endothélium vasculaire ayant des similitudes avec la pathogénie du sepsis. Il a été montré que les statines étaient efficaces et bien tolérées pour prévenir la morbidité et la mortalité cardiovasculaire. Alors que l'on considérait initialement que cet effet était lié aux propriétés hypolipémiantes des statines, il apparaît à présent que leurs mécanismes d'action ne sont pas limités à la modulation des

lipides. Des données expérimentales animales et humaines suggèrent que l'activité pléiotrope des statines pourrait moduler les cascades de l'inflammation associées au sepsis. Des observations indiquent que les statines peuvent altérer directement l'infectivité et la prolifération de différents microorganismes. Une activité antimicrobienne a été mise en évidence pour *Salmonella typhimurium*, HIV-1, *Candida albicans* et le cytomegalovirus. Seuls des essais cliniques randomisés permettraient de vérifier l'efficacité des statines dans la prévention ou le traitement adjuvant des sepsis en général et du paludisme en particulier. Avant d'envisager un tel essai, il est utile de rassembler des données cliniques et des données expérimentales pour vérifier si les statines auraient un intérêt contre le paludisme et le paludisme grave en particulier. En association, l'atorvastatine peut protéger du neuropaludisme dans un modèle murin de neuropaludisme.

DORMOI J, SAVINI H, **AMALVICT R**, **BARET E**, **PRADINES B**. In vitro interaction of lumefantrine and piperazine by atorvastatin against *Plasmodium falciparum*. *Malar. J.*, 2014, 13:189.

La cépharanthine, un alcaloïde isolé chez *Stephania rotunda*, une plante d'Asie du Sud-Est, potentialise l'activité *in vitro* de la chloroquine, de la luméfantine, de la monodéséthylamodiaquine et de la pipéraqine. Elle augmente aussi *in vivo* la survie des souris infectées.

DESGROUAS C., DORMOI J., CHAPUS C., OLLIVIER E., PARZY D., **TAUDON N**. In vitro and in vivo combination of cepharantine with anti-malarial drugs. *Malar. J.*, 2014, 13, 90.

DESGROUAS C, CHAPUS C, DESPLANS J, TRAVAILLE C, **PASCUAL A**, BAGHDIKIAN B, OLLIVIER E, PARZY D, **TAUDON N**. In vitro antiplasmodial activity of cepharanthine. *Malar. J.*, 2014, 13:327.

DESGROUAS C, **DESBORDES M**, DORMOI J, OLLIVIER E, PARZY D, **TAUDON N**. Quantitative analysis of cepharanthine in plasma based on semiautomatic microextraction by packed sorbent combined with liquid chromatography. *J. Anal. Methods Chem.*, 2014, 2014:695231.

La méfloquine (MQ) est commercialisée sous forme d'un mélange racémique. Un des énantiomères serait principalement responsable de l'activité antipaludique alors que le deuxième exercerait des effets indésirables centraux. Cette stéréosélectivité témoigne de l'importance de la stéréochimie de la MQ. Le Laboratoire des Glucides (CNRS FRE 3517, UPJV, Amiens), dirigé par le Pr P. sonnet, a mis au point la synthèse de 4-aminoquinolinols énantiomériquement purs, analogues de la méfloquine (brevet). L'objectif de notre travail a été d'évaluer leur activité. *In vitro*, ces 4-aminoquinolinols ont montré une activité antiplasmodiale intense. Les composés de configuration S ont été 2 à 15 fois plus actifs. L'efficacité des molécules les plus prometteuses a été confirmée sur modèle murin.

MULIE C, **TAUDON N**, DESGROUAS C, JONET A, **PASCUAL A**, AGNAMEY P, SONNET P. Enantiomerically pure amino-alcohol quinolines: in vitro anti-malarial activity in combination with dihydroartemisinin, cytotoxicity and in vivo efficacy in a Plasmodium berghei mouse model. *Malar. J.*, 2014,13:407.

### 6.1.2 Recherche de marqueurs moléculaires de résistance à la doxycycline, à la pyronaridine et à la pipéraqine

Une analyse bayésienne des CI50 de la doxycycline d'isolats originaires du Sénégal, de Thaïlande et d'isolats de paludisme d'importation (AP-HP) a été réalisée. De même, l'analyse du nombre de copies de *pftetQ* et *pfmdt* en fonction des CI50 de la doxycycline a été réalisée pour tous ces échantillons afin de valider l'utilisation de ces deux gènes comme marqueurs moléculaires de la diminution de sensibilité à la doxycycline. Il semblerait que le nombre de copies de *pftetQ* et *pfmdt* soit un marqueur de diminution de la sensibilité à la doxycycline pour des isolats Africains mais pas pour des isolats Asiatiques ou Sud-Américains.

Ces deux marqueurs ont été validés dans un cas d'échec prophylactique avéré à la doxycycline. De nouveaux marqueurs sont en cours d'analyse.

La même analyse bayésienne a été réalisée pour l'étude de la distribution des CI50 de la pyronaridine et de la pipéraqine. L'identification de nouveaux marqueurs de diminution de sensibilité à ces deux molécules est en cours..



### 6.1.3 Evaluation des performances d'un microscope automatisé pour le diagnostic du paludisme : CellsCheck

En partenariat avec la société All Diag, le CNR du paludisme a évalué les performances d'un dispositif automatisé de diagnostic du paludisme : le CellsCheck qui est un microscope automatique couplé à un ordinateur avec un logiciel d'analyse d'images. L'analyse repose sur le marquage des globules rouges du patient testé par une combinaison de plusieurs colorants vitaux qui permettent l'identification des parasites vivants. A partir d'un échantillon de sang total dilué dans un tampon spécifique, les cellules diluées sont introduites dans une chambre de lecture pour constituer une monocouche cellulaire (au moins 1 million de globules rouges). Les cellules sont scannées par un microscope automatique qui capture plus de 500 images à trois longueurs d'onde d'exposition différentes. Les images sont analysées par un ordinateur selon un algorithme qui permet l'identification des plasmodiums intracellulaires à partir d'une bibliothèque d'images constituée de l'observation de plusieurs milliers d'échantillons sanguins négatifs et positifs pour le paludisme. Le dispositif permet le diagnostic de paludisme, avec l'identification de l'espèce et de la parasitémie basée sur l'analyse de chaque globule rouge analysé.

Les prélèvements inclus dans cette étude étaient constitués de sang total, reçus au CNR du paludisme, prélevés depuis moins de 72 heures, et sans notion de traitement antipaludique antérieur. Les échantillons étaient analysés avec le Cellscheck et en parallèle, un diagnostic microscopique de paludisme était réalisé par frottis/goutte épaisse avec identification de l'espèce et évaluation de la parasitémie pour les échantillons positifs. La présence de gamétocytes était précisée. En cas de discordance entre les 2 méthodes, une PCR (Faste Track, Launch Diagnostics) pour l'identification moléculaire des plasmodiums était réalisée.

Le résultat du CellsCheck était négatif ou positif ; dans ce cas, la réponse concernant l'identification de l'espèce était *P. falciparum*/ non *P. falciparum*, avec une estimation de la parasitémie.

Au total, 414 prélèvements ont été inclus dans l'étude dont 85 prélèvements négatifs et 329 prélèvements positifs dont 283 prélèvements positifs à *P. falciparum*, 20 *P. ovale*, 12 *P. malariae* et 9 *P. vivax*.

La spécificité observée est de 96.5% (IC : 92.5 – 100) avec 82/85 prélèvements rendus négatifs et la sensibilité est de 95.4% (IC : 93.2 – 97.7) avec 314/329 prélèvements positifs. Si on ne considère que les prélèvements positifs dont les parasitémies étaient supérieures à 100p/µl ; la sensibilité est de 99.3% (IC = 98.4 – 100) avec 302/304 prélèvements positifs.

La différenciation entre *P. falciparum*/ non *P. falciparum*, l'identification de *P. falciparum* était correcte dans 98.9% des cas (268/271) et pour les non *P. falciparum*, 38 prélèvements sur 41 (92.7%) étaient bien identifiés.

La corrélation entre les parasitémies estimées par le Cellscheck et par l'observation microscopique était bonne avec un coefficient  $R^2 = 0.77$ , l'automate ayant une tendance à surestimer les parasitémies mais les répétabilités des deux méthodes doivent être évaluées.

Au total, l'automate évalué a montré des performances satisfaisantes pour le diagnostic du paludisme, au moins, aussi bonne que les tests de diagnostic rapide (TDR) pour des parasitémies supérieures à 100p/µl (seuil de détection des TDR) avec une sensibilité non dépendante de l'espèce en cause et avec l'avantage d'estimer la parasitémie.

Une meilleure sensibilité, l'identification plus précise des espèces différentes de *P.falciparum* et l'identification de parasites sexués sont les axes d'amélioration prévus par la société.

### 6.1.4 Evaluation des biomarqueurs de la résistance chez *Plasmodium falciparum* dans la surveillance des ACTs

Afin de limiter le développement des résistances par *Plasmodium falciparum* aux traitements médicamenteux, les dernières thérapeutiques déployées sont les Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine (CTA), association d'un dérivé d'artémisinine à demi-vie courte avec un antipaludique (méfloquine, amodiaquine, luméfántrine, pipéraquline, etc.) à demi-vie longue. L'OMS préconise l'utilisation de CTA au niveau mondial, toutefois cette directive est peut-être menacée par l'émergence de résistances notamment aux dérivés d'artémisinine en Asie du Sud-Est avec la menace de la propagation de la résistance aux dérivés d'artémisinine car ils sont associés à des molécules présentant des variations de sensibilités séculairement. A cette menace s'ajoute les mouvements de

population croissants qui pourraient propager rapidement les parasites résistants, posant un risque dans de nombreux pays où la transmission du paludisme est très importante. En conséquence, si la résistance venait à se propager notamment à l'Afrique subsaharienne, les implications sur la santé publique pourraient être désastreuses, car aucun médicament de remplacement n'est disponible à l'heure actuelle avec le même niveau d'efficacité et de tolérance que les ACTs.

Dans le cadre de ses missions, le CNR du paludisme, réalise la surveillance des CTA et des échecs thérapeutiques afin d'évaluer l'importance de biomarqueurs de résistance déjà répertoriés chez *Plasmodium falciparum* dans les variations de sensibilités aux molécules impliquées.

Mille cinq cent isolats de paludisme d'importation à *P. falciparum* contractés essentiellement en Afrique sub-saharienne ont été collectés en 2013 au CNR Paludisme, transmis par les correspondants hospitaliers répartis sur l'ensemble du territoire métropolitain.

Trois gènes ont été évalués par séquençage ou PCR-RFLP multiplexe :

- le gène *K13* codant pour une protéine similaire aux protéines kelch présentant notamment un SNP C580Y impliqué dans les variations de sensibilité aux dérivés d'artémisinine en Asie du Sud-Est (Ariey, 2014),
- le gène *Pfcr1* codant pour un transporteur dont le SNP en position 76 joue un rôle dans les variations de sensibilité à l'amodiaquine et à la luméfantine (Sisowath et al., 2009 ; Eyase et al, 2013)
- le gène *pfmdr-1* codant pour un autre transporteur. Ce gène est impliqué soit par une amplification du gène soit par un polymorphisme variable. Une variation du nombre de copie de ce gène a été répertoriée dans les variations de sensibilité à la méfloquine couplée ou non à l'artésunate (Price, 2004) à la luméfantine (Sidhu, 2006) et à la pipéraquline (Veiga, 2012). Le polymorphisme de *pfmdr-1* est très variable, les SNPs ayant un rôle dans la sensibilité ou la résistance aux antipaludiques sont en position 86, 184, 1034, 1042 et 1246.

Les résultats n'ont pas montré la présence du SNP en position 580 du gène *K13* sur les échantillons testés mais une variation des SNPs de *Pfcr1* et *pfmdr1* répertoriés en fonction de la sensibilité des parasites aux antipaludiques employés dans les ACTs. Des études se poursuivre afin de trouver d'autres biomarqueurs plus spécifiques aux ACTs sur le continent Africain.

M. Béjaoui, V. Hubert, C. Moisant, C. Maréchal, N. Argy, J. Clain, B. Pradines, S. Houzé, S. Cojean: Evaluation des biomarqueurs de la résistance chez *Plasmodium falciparum* dans la surveillance des ACTs. Société Française de Parasitologie, Reims, 2015

### 6.1.5 Evaluation de la sensibilité aux insecticides de populations d'*Anopheles darlingi*, vecteur du paludisme en Guyane

Site: LA-AG

Participants: Médecin en chef Sébastien Briolant, Dr Samuel Venezhego, Dr Romain Girod et Dr Isabelle Dusfour.

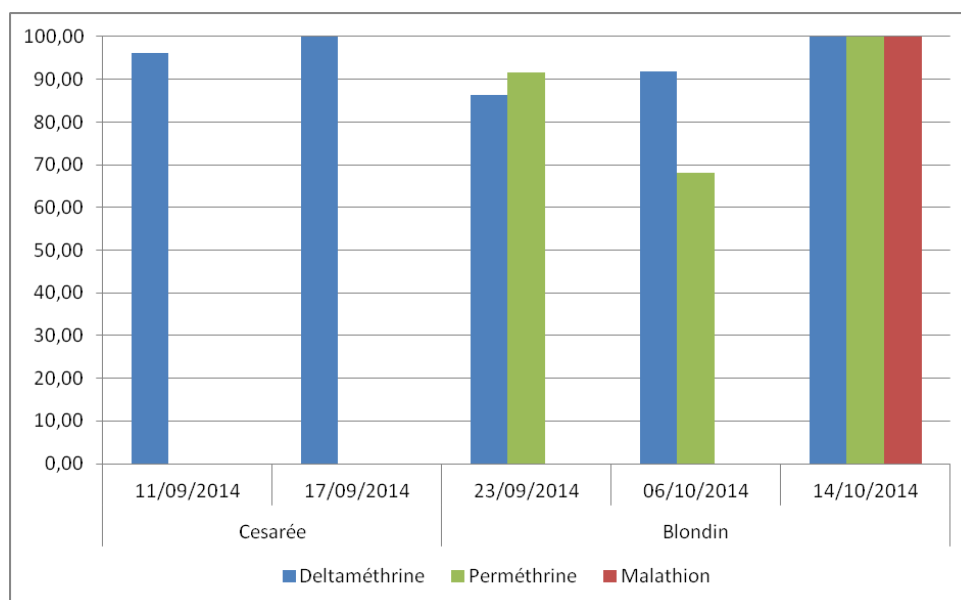
Partenaires: DIASS Guyane, ARS de Guyane et Unité d'entomologie médicale de l'IPG.

Plusieurs missions d'évaluation entomologique ont été réalisées en septembre et octobre 2014, afin d'évaluer la sensibilité des populations d'*Anopheles darlingi* (vecteur majeur du paludisme en Guyane) aux insecticides utilisés en pulvérisation intradomiciliaire ou en imprégnation des moustiquaires dans le cadre de la lutte contre le paludisme.

Les anophèles étaient capturés sur appât humain et soumis à des tests insecticides en bouteille type CDC. Les résultats présentés dans le tableau ci-dessous, montrent une sensibilité de la population d'*An. darlingi* capturée sur la Césarée un site de savane du littoral situé à 40 km à l'ouest de Cayenne et exempt de transmission palustre (Figure 53). En revanche, la population d'*An. darlingi* capturée au village Blondin, à 5 km de la ville de Saint-Georges de l'Oyapock, situé en zone d'endémie palustre, présente une diminution de sensibilité aux pyréthrinoides de synthèse (Deltaméthrine et Perméthrine) avec moins de 90% de mortalité après 30 minutes d'exposition à des doses diagnostics. Les tests en bouteille réalisés avec la deltaméthrine et la perméthrine ont montré l'existence d'une part de populations d'*An. darlingi* résistantes ou tolérantes à ces deux molécules et d'autre part de populations d'*An. darlingi* sensibles.

Le suivi de la résistance des populations d'*An. darlingi* de Guyane aux molécules insecticides utilisées pour la lutte contre les anophèles vecteurs est fondamental et doit être poursuivi. Une fréquence au moins annuelle des tests et le suivi de populations d'*An. darlingi* originaires de localités couvrant

l'ensemble de l'aire de répartition de l'espèce sont préconisés pour mieux appréhender la situation dans le temps et dans l'espace.



**Figure 53 : Résultats des tests en bouteilles.**

Femelles *An. Darlingi* collectées à la Césariée et dans le Village Blondin. Pourcentages de femelles mortes 30 minutes après exposition à la Deltaméthrine (12,5µg/L), à la Perméthrine (21,5µg/L) et au Malathion (50µg/L).

## 6.2 Liste des publications et communications

### 6.2.1 Publications internationales

Brousse V, Buffet P, Rees D. The spleen and sickle cell disease: the sick(led) spleen. *Br J Haematol.* 2014 Jul;166(2):165-76. doi: 10.1111/bjh.12950. Epub 2014 May 26.

Cottrell G, **Musset L, Hubert V, Le Bras J, Clain J**; Atovaquone-Proguanil Treatment Failure Study Group. Emergence of resistance to atovaquone-proguanil in malaria parasites: insights from computational modeling and clinical case reports. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014 Aug;58(8):4504-14. doi: 10.1128/AAC.02550-13. Epub 2014 May 27.

Dahlström S, Aubouy A, Maïga-Ascofaré O, Faucher JF, Wakpo A, Ezinmègnon S, Massougbdji A, Houzé P, Kendjo E, Deloron P, Le Bras J, **Houzé S**. *Plasmodium falciparum* Polymorphisms associated with ex vivo drug susceptibility and clinical effectiveness of artemisinin-based combination therapies in Benin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(1):1-10. doi: 10.1128/AAC.01790-12. Epub 2013 Oct 7.

Desgrouas C, Chapus C, Desplans J, Travaille C, **Pascual A**, Baghdikian B, Ollivier E, Parzy D, **Taudon N**. *In vitro* antiplasmodial activity of cepharanthine. *Malar. J.*, 2014, 13:327.

Desgrouas C, **Desbordes M**, Dormoi J, Ollivier E, Parzy D, **Taudon N**. Quantitative analysis of cepharanthine in plasma based on semiautomatic microextraction by packed sorbent combined with liquid chromatography. *J. Anal. Methods Chem.*, 2014, 2014:695231.

Desgrouas C., Dormoi J., Chapus C., Ollivier E., Parzy D., **Taudon N**. *In vitro* and *in vivo* combination of cepharanthine with anti-malarial drugs. *Malar. J.*, 2014, 13, 90.

Dormoi J, Savini H, **Amalvict R, Baret E, Pradines B**. *In vitro* interaction of lumefantrine and piperazine by atorvastatin against *Plasmodium falciparum*. *Malar. J.*, 2014, 13:189.

Gaillard T, Briolant S, **Houzé S**, Baragatti M, Wurtz N, Hubert V, Lavina M, Pascual A, Travaillé C, Le Bras J, Pradines B; French National Reference Centre for Imported Malaria Study Group. PftetQ and pfmdt copy numbers as predictive molecular markers of decreased ex vivo doxycycline susceptibility in imported *Plasmodium falciparum* malaria. *Malar J.* 2013 Nov 14;12:414. doi: 10.1186/1475-2875-12-414.

Galinsky K, Valim C, Salmier A, de Thoisy B, **Musset L**, Legrand E, Faust A, Baniecki ML, Ndiaye D, Daniels RF, Hartl DL, Sabeti PC, Wirth DF, Volkman SK, Neafsey DE. COIL: a methodology for evaluating malarial complexity of infection using likelihood from single nucleotide polymorphism data. *Malar J*, **2015**. 14: 4.

Hommel B, Charuel JL, Jaureguiberry S, Arnaud L, Courtin R, Kassab P, Prendki V, Paris L, Ghillani-Dalbin P, Thellier M, Caumes E, Amoura Z, Mazier D, Musset L, Buffet P, Miyara M. Chronic malaria revealed by a new fluorescence pattern on the antinuclear autoantibodies test. *PLoS One* 2014;9e88548

**Houzé S**, Hoang NT, Lozach O, Le Bras J, Meijer L, Galons H, Demange L. Several human cyclin-dependent kinase inhibitors, structurally related to roscovitine, as new anti-malarial agents. *Molecules*. 2014 Sep 23;19(9):15237-57. doi: 10.3390/molecules190915237.

Ibrahim N, Ibrahim H, Dormoi J, Briolant S, **Pradines B**, Moreno A, Mazier D, Legrand P, Nepveu F. Albumin-bound nanoparticles of practically water-insoluble antimalarial lead greatly enhance its efficacy. *Int. J. Pharm.*, 2014, 464:214-224.

**Jauréguiberry S\***, Ndour A\*, Roussel C, **Thellier M**, Ader F, Safeukui I, Nguyen M, **Biligui S**, **Ciceron L**, Mouri O, **Kendjo E**, Bricaire F, Vray M, Haldar K, **Mazier D**, Caumes E, **Buffet P** and the French Artesunate Working Group *Post Artesunate delayed hemolysis is a predictable event related to the lifesaving effect of artemisinins*. **Blood** **2014**;124:167-75

**Jauréguiberry S**, Ndour PA, **Thellier M**, Caumes E, **Buffet P**. Patterns of anemia during malaria. *Int J Infect Dis*. **2015** Jan 7;33C:89. doi: 10.1016/j.ijid.2014.12.048.

Khim N, Andrianaranjaka V, Popovici J, Kim S, Ratsimbaoa A, Benedet C, Barnadas C, Durand R, Thellier M, Legrand E, **Musset L**, Menegon M, Severini C, Nour BY, Tichit M, Bouchier C, Mercereau-Puijalon O, Ménard D. Effects of mefloquine use on *Plasmodium vivax* multidrug resistance. *Emerg Infect Dis*, **2014**. 20: 1637-1644.

Kumar K, **Pradines B**, **Madamet M**, **Amalvict R**, **Benoit N**, Kumar V. 1H-1,2,3-triazole tethered isatin-ferrocene conjugates: Synthesis and in vitro antimalarial evaluation. *Eur. J. Med. Chem.*, 2014, **87**:801-804.

**Madamet M**, Fall B, **Benoit N**, Camara C, **Amalvict R**, Fall M, Dionne P, Fall B B, Nakoulima A, Diatta B, Dieme Y, Menard D, Wade B, **Pradines B**. Limited polymorphisms in K13 gene in *Plasmodium falciparum* isolates from Dakar, Senegal in 2012-2013. *Malar. J.*, 2014, **13**, 472.

Menegon M, Durand P, Menard D, **Legrand E**, Picot S, Nour B, Davidyants V, Santi F, Severini C. Genetic diversity and population structure of *Plasmodium vivax* isolates from Sudan, Madagascar, French Guiana and Armenia. *Infect Genet Evol*, **2014**. 27: 244-249.

Migliani R, **Pradines B**, Michel R, Aoun O, Dia A, Deparis X, Rapp C. Malaria control strategies in French armed forces. *Trav. Med. Infect. Dis.*, 2014, 12:307-317.

Mulie C, **Taudon N**, Desgrouas C, Jonet A, **Pascual A**, Agnamey P, Sonnet P. Enantiomerically pure amino-alcohol quinolines: in vitro anti-malarial activity in combination with dihydroartemisinin, cytotoxicity and in vivo efficacy in a *Plasmodium berghei* mouse model. *Malar. J.*, 2014,**13**:407.

**Musset L**, Pelleau S, Girod R, Ardillon V, Carvalho L, Dusfour I, Gomes MSM, Djossou F, Legrand E. Malaria on the Guiana Shield: a review of the situation in French Guiana. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **2014**. 109 : 525-533.

Navarro M, Castro W, **Madamet M**, **Amalvict R**, **Benoit N**, **Pradines B**. Metal-chloroquine derivatives as possible anti-malarial drugs: evaluation of anti-malarial activity and mode of action. *Malar. J.*, 2014, **13**, 471.

Ndour PA, Lopera-Mesa TM, Diakité SAS, Chiang S, Mouri O, Roussel C, Jauréguiberry S, Biligui S, Kendjo E, Claessens A, Ciceron L, Mazier D, Thellier M, Diakité M, Fairhurst RM, Buffet PA. The clearance of *P. falciparum*-infected erythrocytes is rapid and pitting-independent in immune Malian children treated with artesunate for malaria. *Journal of Infectious Diseases* 2014;Sept 3:1-8

Picot J\*, Ndour PA\*, El Nemer W\*, Tawfik H, Le Pioufle B, Le Van Kim C, Buffet P, Français O. A biomimetic microfluidic chip to study the circulation and mechanical retention of erythrocytes in the spleen. *Am J Hematol* 2015; Jan 12. doi: 10.1002/ajh.23941

Rey J, **Buffet PA**, Ciceron L, Milon G, Mercereau-Puijalon O, Safeukui I. Reduced erythrocyte deformability associated with hypoargininemia during *Plasmodium falciparum* malaria. *Sci Rep*. 2014 Jan 20;4:3767

Safeukui I, Gomez ND, Adelani AA, Burte F, Afolabi NK, Akondy R, Velazquez P, Holder A, Tewari R, Buffet P, Brown BJ, Shokunbi WA, Olaleye D, Sodeinde O, Kazura J, Ahmed R, Mohandas N, Fernandez-Reyes D, Haldar K. Malaria induces anemia through CD8+ T cell-dependent parasite clearance and erythrocyte removal in the spleen. *MBio*. 2015 Jan 20;6(1). pii: e02493-14. doi: 10.1128/mBio.02493-14.

Siala E, Gamara D, Kallel K, Daaboub J, Zouiten F, **Houzé S**, Bouratbine A, Aoun K. Airport malaria: report of four cases in Tunisia. *Malar J*. 2015 Jan 28;14(1):42. doi: 10.1186/s12936-015-0566-x.

Venkatesan M, Gadalla NB, Stepniewska K, Dahal P, Nsanzabana C, Moriera C, Price RN, Mårtensson A, Rosenthal PJ, Dorsey G, Sutherland CJ, Guérin P, Davis TM, Ménard D, Adam I, Ademowo G, Arze C, Baliraine FN, Berens-Riha N, Björkman A, Borrmann S, Checchi F, Desai M, Dhorda M, Djimdé AA, El-Sayed BB, Eshetu T, Eyase F, Falade C, Faucher JF, Fröberg G, Grivoyannis A, Hamour S, **Houzé S**, Johnson J, Kamugisha E, Kariuki S, Kiechel JR, Kironde F, Kofoed PE, LeBras J, Malmberg M, Mwai L, Ngasala B, Nosten F, Nsoyba SL, Nzila A, Oguike M, Otienoburu SD, Ogutu B, Ouédraogo JB, Piola P, Rombo L, Schramm B, Somé AF, Thwing J, Ursing J, Wong RP, Zeynudin A, Zongo I, Plowe CV, Sibley CH; ASAQ Molecular Marker Study Group; WWARN AL. Polymorphisms in *Plasmodium falciparum* chloroquine resistance transporter and multidrug resistance 1 genes: parasite risk factors that affect treatment outcomes for *P. falciparum* malaria after artemether-lumefantrine and artesunate-amodiaquine. *Am J Trop Med Hyg*. 2014 Oct;91(4):833-43. doi: 10.4269/ajtmh.14-0031. Epub 2014 Jul 21.

Wurtz N, Fall B, **Pascual A**, Fall M, **Baret E**, Camara C, Nakoulima A, Diatta B, Ba Fall K, Mbaye P S, Dieme Y, Bercion R, Wade B, **Pradines B**. Role of *Pfmdr1* in *in vitro Plasmodium falciparum* susceptibility to chloroquine, quinine, monodesethylamodiaquine, mefloquine, lumefantrine and dihydroartemisinin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2014, 58:7032-7040.

Yalcindag E, Rougeron V, Elguero E, Arnathau C, Durand P, Brisse S, Diancourt L, Aubouy A, Becquart P, d'Alessandro U, Fontenille D, Gamboa D, Maestre A, Menard D, **Musset L**, Noya O, Veron V, Wide A, Carme B, Legrand E, Chevillon C, Ayala F, Renaud F, Prugnolle F. Patterns of selection on *Plasmodium falciparum* erythrocyte binding antigens after the colonisation of the New World. *Mol Ecology*, 2014. 23: 1979-1993.

### 6.2.2 Publication nationale

Jauréguiberry S, Thellier M, Mazier D, Lebrun-Vigne B, Bricaire F, Buffet P, Caumes E. L-17: L'artésunate IV est efficace et bien tolérée malgré la fréquente et rarement sévère anémie hémolytique retardée : suivi prospectif de 123 malades atteints de paludisme grave traités en France. *Med Mal Infect*. 2014 Jun;44(6Suppl):64. doi: 10.1016/S0399-077X(14)70232-X. French. PubMed PMID: 24994319.

### 6.2.3 Communications internationales

#### Orales

Pelleau S, Moss EL, Dhingra S, Volney B, Casteras J, Volkman SK, Wirth DF, Legrand E, Fidock DA, Neafsey DE, **Musset L**. Reversal of chloroquine resistance in *P. falciparum* in French Guiana: an original evolutionary pathway from low endemic settings and implications for resistance surveillance in South America. *Abst n°1241. 63<sup>rd</sup> Annual meeting of the American society of tropical medicine and hygiene*, 2-6<sup>th</sup> November, New-Orleans (USA).

**Musset L**. 2014. Monitoring antimalarial therapeutic efficacy: issues, challenges and strategic approaches. *Meeting for the Guiana Shield and consultation on the draft "Plan for artemisinin resistance containment and elimination in South America"*, 11-13 novembre, Paramaribo (Suriname). Conférence invitée.

**Musset L**. 2014. Drug efficacy and resistance level of artemisinin derivatives and partner drugs in French Guiana. *Meeting for the Guiana Shield and consultation on the draft "Plan for artemisinin resistance containment and elimination in South America"*, 11-13 novembre, Paramaribo (Suriname). Conférence invitée.

#### Affichées

Cottrell G, **Musset L**, Hubert V, Le Bras J, Clain J. 2014. Within-host emergence of resistance to atovaquone-proguanil in malaria parasites: insights from computational modeling and clinical case

reports. Abs n°225. 10<sup>th</sup> Annual BioMalPar/EVIMalaR Conference: Biology and pathology of the malaria parasite, 12-15<sup>th</sup> May, Heidelberg (Germany).

Leba LJ, Popovici J, Houël E, Odonne G, Arnaud JO, Stien D, **Musset L**, Legrand E, Duplais C. **2014**. En route to new therapeutic and transmission-blocking molecules from Amazonian natural substances to control *Plasmodium falciparum* malaria. Abs n°145. 10<sup>th</sup> Annual BioMalPar/EVIMalaR Conference: Biology and pathology of the malaria parasite, 12-15<sup>th</sup> May, Heidelberg (Germany).

## 6.2.4 Communications nationales

### Orales

Pelleau S, Moss EL, Volney B, Casteras J, Legrand E, Neafsey DE, **Musset L**. 2014. Identification of a new molecular marker for *Plasmodium falciparum* drug susceptibility in French Guiana: potential implications for malaria control in South America. 9<sup>th</sup> Conference Louis Pasteur : Emerging Infectious Diseases, 09-11 avril, Paris (France).

Houzé S, Blanc V, Argy N, Thellier M. Suivi de l'efficacité thérapeutique des accès palustres : attention aux splénectomies ! Société Française de Parasitologie, Reims, 2015

### Affichées

M. Béjaoui, **V. Hubert**, C. Moisant, C. Maréchal, **N. Argy**, **J. Clain**, **B. Pradines**, **S. Houzé**, **S. Cojean**. Evaluation des biomarqueurs de la résistance chez *Plasmodium falciparum* dans la surveillance des ACTs. Société Française de Parasitologie, Reims, 2015

Argy N, Moisant C, Hubert V, **Houzé S**. Validation de la PCR diagnostique temps réel Fast Track pour le diagnostic du paludisme. Société Française de Parasitologie, Reims, 2015

Augé C, Argy N, Hubert V, Devisme C, **Houzé S**. Quelle place pour les nouveaux tests diagnostiques pour le suivi thérapeutique de l'accès palustre ? Société Française de Parasitologie, Reims, 2015

## 7 Coopération avec les laboratoires environnementaux et d'hygiène

De part la thématique traitée par le CNR, le paludisme, aucune interaction avec les laboratoires environnementaux et d'hygiène n'a lieu.

En Guyane, zone d'endémie du paludisme, des échanges ont lieu régulièrement entre le LA-AG et le service de démoustication du conseil général de la Guyane (partage d'information, d'expérience etc...) ainsi que le secteur santé et environnement de l'ARS Guyane qui est en charge de la communication, de la distribution de moustiquaires et de l'éducation à la santé (ex : organisation conjointe de journée de sensibilisation aux paludisme chez les scolaires etc...).

## 8 Programme d'activité 2015 et 2016

Pour les 2 années à venir, le CNR du Paludisme va poursuivre ses activités de surveillance du paludisme d'importation en France métropolitaine, et dans les DOM indemnes de paludisme (Antilles françaises et La Réunion) et du paludisme autochtone en Guyane et à Mayotte, en collaboration avec l'INVS, les CIRE régionales et les ARS.

Plus particulièrement, le pôle métropole du CNR du Paludisme souhaite développer :

- la mise à disposition pour les correspondants du CNR qui le souhaiteraient, d'un contrôle externe de la qualité pour compléter les offres existantes, plus particulièrement, sur le diagnostic du paludisme sur goutte épaisse, sur les tests de diagnostic rapide et sur la PCR à visée diagnostique : un lot d'essai a été réalisé en janvier 2014 auquel 65 laboratoires hospitaliers ont participé. Les retours sont favorables à la poursuite de la démarche,
- les laboratoires du CNR vont poursuivre leur démarche de qualité en vue de l'accréditation du diagnostic du paludisme en 2015,
- au plan des analyses biologiques, la standardisation des techniques de diagnostic moléculaire entre les laboratoires du CNR du Paludisme initiée sur les marqueurs moléculaires va se poursuivre au fur et à mesure de la validation de nouvelles méthodes,
- mise en place sur les 3 laboratoires d'un test *ex vivo* ou *in vitro* performant et compatible avec nos activités pour l'étude de la sensibilité des isolats aux dérivés de l'artémisinine, comme le test de survie des rings (RSA),
- développer des méthodes *in vitro* et valider des marqueurs moléculaires des résistances aux nouveaux antipaludiques (pipéraquline et pyronaridine), dérivés de l'artémisinine et molécules partenaires.
- après l'identification fin 2013 par l'Institut Pasteur de Paris et l'Institut Pasteur du Cambodge d'un gène sur le chromosome 13 (K13) associé à un phénotype *in vivo* de sensibilité diminuée (clairance diminuée) à l'artémisinine, ces instituts ont mis en place un travail collaboratif entre une vingtaine de pays, essentiellement francophones pour avoir rapidement des éléments de la distribution géographique (présence ou absence) et du niveau du mutant K13 décrit comme prédictif de la résistance à l'artémisinine en Afrique. Les trois laboratoires du CNR (Bichat, IRBA et IPAG) participent à ce travail avec les souches transmises par les correspondants,
- évaluation du polymorphisme et de l'expression du gène *Pftctp* (*P. falciparum* translational controlled tumor protein) sur les isolats suite à une étude sur *P. yoelii* et *ex vivo* chez l'homme impliquant ce gène dans la résistance à l'artémisinine et du gène de la tryptophan-rich antigen 3 a impliqué dans la tolérance à l'artésunate,
- développement d'un test de croissance parasitaire pour mesurer la production d'ARN et/ou de protéines alors que les tests actuels mesurent la synthèse d'ADN,
- au plan du recrutement, la collaboration mise en place en 2013 avec la Réunion et en 2014 avec Mayotte va se poursuivre. La transmission des isolats importés aux Antilles (Guadeloupe et Martinique) est envisagée également,

Pour les deux ans à venir, le LA-AG poursuivra ses activités de surveillance et de sensibilisation des partenaires afin de maintenir son niveau d'exhaustivité.

Le temps consacré à la démarche d'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189 sera plus important de mi-2015 et mi-2016 de façon à permettre un élargissement de la portée d'accréditation du dossier multi-site de l'Institut Pasteur de la Guyane au laboratoire de parasitologie. Cette extension concernera la validation d'une méthode de PCR diagnostique du paludisme par PCR en temps réel.

L'accent sera également mis sur la caractérisation du niveau de sensibilité de *P. falciparum* aux dérivés de l'artémisinine à l'aide du taux de survie (test RSA) et des travaux seront initiés de façon à approfondir les connaissances sur la résistance à la luméfántrine, un antipaludique majeur en Amazonie.

Enfin, les activités de centre collaborateur OMS du laboratoire continueront à être déployées dans le cadre des termes de référence fixées avec l'OMS.

## 9 Références bibliographiques

- Baker, J., J. McCarthy, M. Gatton, D. E. Kyle, V. Belizario, J. Luchavez, D. Bell & Q. Cheng, (2005) Genetic diversity of *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein 2 (PfHRP2) and its effect on the performance of PfHRP2-based rapid diagnostic tests. *J Infect Dis* **192**: 870-877.
- Basco, L. K. & J. Le Bras, (1992) *In vitro* activity of pyronaridine against African strains of *Plasmodium falciparum*. *Ann Trop Med Parasitol* **86**: 447-454.
- Basco, L. K. & J. Le Bras, (1993) *In vitro* activity of artemisinin derivatives against African isolates and clones of *Plasmodium falciparum*. *Am J Trop Med Hyg* **49**: 301-307.
- Basco, L. K. & J. Le Bras, (1994) *In vitro* susceptibility of Cambodian isolates of *Plasmodium falciparum* to halofantrine, pyronaridine and artemisinin derivatives. *Ann Trop Med Parasitol* **88**: 137-144.
- Basco, L. K. & P. Ringwald, (2003) *In vitro* activities of piperazine and other 4-aminoquinolines against clinical isolates of *Plasmodium falciparum* in Cameroon. *Antimicrob Agents Chemother* **47**: 1391-1394.
- Brasseur, P., J. Kouamouo, R. S. Moyou & P. Druilhe, (1990) Emergence of mefloquine-resistant malaria in Africa without drug pressure. *Lancet* **336**: 59.
- Briolant, S., M. Baragatti, P. Parola, F. Simon, A. Tall, C. Sokhna, P. Hovette, M. M. Mamfoumbi, J. L. Koeck, J. Delmont, A. Spiegel, J. Castello, J. P. Gardair, J. F. Trape, M. Kombila, P. Minodier, T. Fusai, C. Rogier & B. Pradines, (2009) Multinomial *in vitro* distribution model suitable for the distribution of *Plasmodium falciparum* chemosusceptibility to doxycycline. *Antimicrob Agents Chemother* **53**: 688-695.
- Briolant S, Wurtz N, Zettor A, Rogier C, **Pradines B**, (2010). Susceptibility of *Plasmodium falciparum* isolates to doxycycline is associated with *pftetQ* sequence polymorphisms and *pftetQ* and *pfmdt* copy numbers. *J Infect Dis*. **201**: 153-159.
- Cojean, S., V. Hubert, J. Le Bras, R. Durand, (2006) Resistance to dihydroartemisinin. *Emerg Infect Dis* **12**:1798-1799.
- Dedet, J. P., P. Germanetto, G. Cordoliani, O. Bonnevie & J. Le Bras, (1988) [*In vitro* activity of various antimalarials (chloroquine, amodiaquine, quinine and mefloquine) against 32 isolates of *Plasmodium falciparum* in French Guiana]. *Bull Soc Pathol Exot Filiales* **81**: 88-93.
- Jambou, R., E. Legrand, M. Niang, N. Khim, P. Lim, B. Volney, M. T. Ekala, C. Bouchier, P. Esterre, T. Fandeur & O. Mercereau-Puijalon, (2005) Resistance of *Plasmodium falciparum* field isolates to *in-vitro* artemether and point mutations of the SERCA-type PfATPase6. *Lancet* **366**: 1960-1963.
- Kaddouri, H., S. Nakache, S. Houzé , F. Mentré & J. Le Bras, (2006) Drug Susceptibility of *Plasmodium falciparum* Clinical Isolates from Africa using Plasmodium Lactate Dehydrogenase Immunodetection Assay and inhibitory Emax model for precise IC50 measurement. *Antimicrob Agents Chemother*. **50**: 3343-3349.
- Kaddouri, H., S. Nakache, S. Houzé, F. Mentré & J. Le Bras, (2006) Assessment of the drug susceptibility of *Plasmodium falciparum* clinical isolates from africa by using a Plasmodium lactate dehydrogenase immunodetection assay and an inhibitory maximum effect model for precise measurement of the 50-percent inhibitory concentration. *Antimicrob Agents Chemother* **50**: 3343-3349.
- Le Bras, J., P. Deloron, J. F. Hartmann, P. Coulanges, H. V. Dourado & B. Larouze, (1984) Application of an *in vitro* semi-microtest to the study of drug sensitivity of 66 *Plasmodium falciparum* isolates from 15 countries. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **78**: 485-488.
- Legrand, E., M. Demar, B. Volney, M. T. Ekala, M. Quinternet, C. Bouchier, T. Fandeur, C. Rogier, B. Carme, O. M. Puijalon & P. Esterre, (2007) First case of emergence of atovaquone resistance in *Plasmodium falciparum* during second-line atovaquone-proguanil treatment in South America. *Antimicrob Agents Chemother* **51**: 2280-2281.
- Legrand E., J. Yrinesi, M.T. Ekala, J. Péneau, B. Volney, F. Berger, C. Bouchier, S. Bertani, L. Musset, J.B. Meynard & O. Mercereau-Puijalon, (2012) Discordant temporal evolution of *Pfcr*t and



*Pfmdr1* genotypes and *Plasmodium falciparum* *in vitro* drug susceptibility to 4-aminoquinolines after drug policy change in French Guiana. *Antimicrob Agents Chemother.*; **56** :1382-1389.

Musset, L., J. Le Bras & J. Clain, (2007) Parallel evolution of adaptive mutations in *Plasmodium falciparum* mitochondrial DNA during atovaquone-proguanil treatment. *Mol Biol Evol* **24**: 1582-1585.

Musset, L., B. Pradines, D. Parzy, R. Durand, P. Bigot & J. Le Bras, (2006b) Apparent absence of atovaquone/proguanil resistance in 477 *Plasmodium falciparum* isolates from untreated French travellers. *Publi perso 1* **57**: 110-115.

Noedl, H., J. Bronnert, K. Yingyuen, B. Attlmayr, H. Kollaritsch & M. Fukuda, (2005) Simple histidine-rich protein 2 double-site sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for use in malaria drug sensitivity testing. *Antimicrob Agents Chemother* **49**: 3575-3577.

Ntoumi, F., H. Contamin, C. Rogier, S. Bonnefoy, J. F. Trape & O. Mercereau-Puijalon, (1995) Age-dependent carriage of multiple *Plasmodium falciparum* merozoite surface antigen-2 alleles in asymptomatic malaria infections. *Am J Trop Med Hyg* **52**: 81-88.

Pradines, B., A. Tall, T. Fusai, A. Spiegel, R. Hienne, C. Rogier, J. F. Trape, J. Le Bras & D. Parzy, (1999) *In vitro* activities of benflumetol against 158 Senegalese isolates of *Plasmodium falciparum* in comparison with those of standard antimalarial drugs. *Antimicrob Agents Chemother* **43**: 418-420.

Price, R. N., A. C. Uhlemann, A. Brockman, R. McGready, E. Ashley, L. Phaipun, R. Patel, K. Laing, S. Looareesuwan, N. J. White, F. Nosten & S. Krishna, (2004) Mefloquine resistance in *Plasmodium falciparum* and increased *pfmdr1* gene copy number. *Lancet* **364**: 438-447.

Ringwald, P., J. Bickii & L. K. Basco, (1998) Amodiaquine as the first-line treatment of malaria in Yaounde, Cameroon: presumptive evidence from activity *in vitro* and cross-resistance patterns. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **92**: 212-213.

Robert, F., F. Ntoumi, G. Angel, D. Candito, C. Rogier, T. Fandeur, J. L. Sarthou & O. Mercereau-Puijalon, (1996) Extensive genetic diversity of *Plasmodium falciparum* isolates collected from patients with severe malaria in Dakar, Senegal. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **90**: 704-711.

Savini, H., H. Bogreau, L. Bertaux, H. Bouchiba, P. Kraemer, D. Parzy, E. Garnotel, C. Rogier, F. Simon & B. Pradines, (2008) First case of emergence of atovaquone-proguanil resistance in *Plasmodium falciparum* during treatment in a traveler in Comoros. *Antimicrob Agents Chemother* **52**: 2283-2284.

Snounou, G., S. Viriyakosol, X. P. Zhu, W. Jarra, L. Pinheiro, V. E. do Rosario, S. Thaithong & K. N. Brown, (1993) High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction. *Mol Biochem Parasitol* **61**: 315-320.

Veron, V., S. Simon, B. Carme, (2009) Multiplex real-time PCR detection of *P. falciparum*, *P. vivax* and *P. malariae* in human blood samples. *Exp Parasitol* **121**: 346-351.

WHO, (2003) Assessment and monitoring of antimalarial drug efficacy for the treatment of uncomplicated *falciparum* malaria. In. W. a. H. Organization (ed). Geneva: World and Health Organization, pp.

WHO, (2009) World malaria report. In. W. a. H. Organization (ed). Geneva: World and Health Organization, pp.

Witkowski B, Amaratunga C, Khim N, Sreng S, Chim P, Kim S, Lim P, Mao S, Sopha C, Sam B, Anderson JM, Duong S, Chuor CM, Taylor WR, Suon S, Mercereau-Puijalon O, Fairhurst RM, Menard D 2013. Novel phenotypic assays for the detection of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Cambodia: *in-vitro* and *ex-vivo* drug-response studies. *Lancet Infect Dis*, 13, 1043-1049.