

Rapport annuel d'activité

2018

**Centre de national de référence
du Paludisme**

**Année d'exercice
2017**

Préambule

Ce rapport présente les activités du CNR du Paludisme pour l'année 2017, et les principaux faits marquants. Considérant l'organisation du CNR en 2 pôles épidémiologiques, le pôle « zones non endémiques » qui regroupent le laboratoire coordonnateur, et deux laboratoires associés, et le pôle « zones endémiques » avec le laboratoire de l'Institut Pasteur de Cayenne, les données de chaque pôle seront présentées alternativement pour chaque partie du rapport.

Résumé analytique

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 2017, la transmission des prélèvements est restée à un niveau élevé par les hôpitaux correspondants du réseau.

La surveillance post-thérapeutique recommandée pour la prise en charge du paludisme à *Plasmodium falciparum* reste incomplète. En 2017, le suivi thérapeutique à J3-J4 pour vérifier l'efficacité du traitement est effectué dans 62,4% des cas. Cependant, les contrôles pour la détection des échecs précoces à J7 +/- 2 ou tardifs à J28 +/- 2 sont réalisés dans seulement 37,5% et 28,8% des cas respectivement.

Sur le plan de l'épidémiologie. Pour l'année 2017, un total de 2721 cas de paludisme a été déclaré au Centre national de référence (CNR) du Paludisme par les correspondants du réseau métropolitain. Deux cas concernent des cas présumés autochtones (cryptiques). Le nombre de cas de paludisme d'importation a été estimé à environ 5220 cas pour l'ensemble de la France métropolitaine, plus 10,3 % par rapport à 2016. Les pays à l'origine de la contamination sont toujours majoritairement situés en Afrique subsaharienne (97,6 % des cas). Les cas surviennent principalement chez des sujets d'origine africaine (82,8 %), résidant en France ou arrivant d'Afrique. L'espèce diagnostiquée en majorité est *Plasmodium falciparum* (87,5 %). Aucun accès à *Plasmodium knowlesi* n'a été diagnostiqué depuis 2014.

On note une augmentation marquée du nombre et de la proportion des formes graves, 379 (14,6 %) par rapport à l'année 2016 (292 ; 12,6 %). Un total de 13 décès a été déclaré, soit une létalité de 0,48 % sur l'ensemble des cas et de 3,4 % sur les formes graves. Le traitement par artésunate intraveineux est le traitement le plus prescrit pour les cas graves (77,9 % des cas). Il y a eu, en 2017, treize cas de paludisme d'importation au retour des Comores contre six cas rapportés en 2016. On note une tendance à la baisse des cas en provenance du Mali (n=142, -26,4 %), de la RCA (n=120, -7,7 %), du Congo (n=98, -50,5 %), du Gabon (n=70, -14,6 %), du Burkina Faso (n=59, -15,7 %), du Tchad (n=33, -37,7 %) et de la RDC (n=27, -50,9 %) par rapport à 2016. Les cas en provenance de Côte d'Ivoire, de la Guinée, du Sénégal, du Togo, du Bénin, du Nigéria, du Niger, du Ghana, et de Madagascar sont en augmentation de plus de 17 % par rapport à 2016.

Les données sur l'évolution des chimiorésistances aux antipaludiques en 2017 sont sans particularité par rapport aux années antérieures justifiant les recommandations de chimioprophylaxie du paludisme, en adéquation avec les recommandations internationales. Il n'est pas observé d'augmentation de résistance à l'atovaquone-proguanil et les sensibilités *in vitro* à la luméfántrine, à la pipéraquine et à la dihydroartémisinine restent élevées. 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. En 2017, une chimioprophylaxie n'est alléguée par le patient que dans 23,1 % des cas. Le non-respect des recommandations de prévention reste 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 80,4% des diagnostics.

L'association dihydroartémisinine-pipéraquline est devenue la première première ligne thérapeutique suivie par l'atovaquone-proguanil et l'artémether–luméfántrine pour la prise en charge des accès simples.

Sur le plan de l'efficacité et de la tolérance des traitements du paludisme importé, les quelques échecs thérapeutiques à l'atovaquone-proguanil, à la dihydroartémisinine-pipéraquline et à l'artémether-luméfántrine 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.

Summary

Data from the *CNR du Paludisme*, the French National Reference Center for imported malaria show the adherence of the members of the metropolitan France network to the organization and operation of the *CNR du Paludisme* since in 2017, the transmission of data and samples has remained at a high level.

The post-therapeutic surveillance recommended by the 2017 update of the 2007 revision of the 1999 consensus conference for the management of *Plasmodium falciparum* malaria remains incomplete. In 2017, therapeutic follow-up on D3-D4 to verify the effectiveness of treatment is carried out in 62.4% of cases.

In 2017, a total of 2,721 cases of malaria were reported to the *CNR du Paludisme*, by members of the metropolitan France network. Two cases concern alleged indigenous (cryptic) cases. The number of cases of imported malaria has been estimated at about 5,220 cases for the whole of metropolitan France, plus 10.3% compared to 2016. As in recent years, the countries causing contamination are still predominantly located in sub-Saharan Africa (97.6% of cases). The cases occur mainly in subjects of African origin (82.8%), residing in France or arriving from Africa. The main species reported was *Plasmodium falciparum* (87.5%), stable compared to 2016. No cases of *Plasmodium knowlesi* has been diagnosed since 2014.

There is a marked increase in the number and proportion of severe malaria cases, 379 (14.6%) compared to 2016 (292, 12.6%). A total of 13 deaths were reported, fatality rate of 0.48% for all cases and 3.4% for severe cases. Treatment with intravenous artesunate, recommended by the *Haut Conseil de la Santé Publique* (High Council of Public Health) in 2013, is the most prescribed treatment for severe cases (77.9% of cases). There were, in 2017, thirteen cases of imported malaria from Comoros against six cases reported in 2016 (4, 1 and 58 respectively in 2015, 2014 and 2013). There is also a downward trend in cases from Mali (n = 142, -26.4%), Central African Republic (n = 120, -7.7%), Congo (n = 98, -50.5%), Gabon (n = 70, -14.6%), Burkina Faso (n = 59, -15.7%), Chad (n = 33, -37.7%) and Democratic Republic of Congo (n = 27, -50, 9%) compared to 2016. Cases from Côte d'Ivoire, Guinea, Senegal, Togo, Benin, Nigeria, Niger, Ghana, and from Madagascar are up more than 17% compared to 2016.

The data on the evolution of antimalarial resistance in 2017 are without particularity compared to the previous year's justifying the recommendations of chemoprophylaxis for malaria, in adequacy with the international recommendations. No increase in resistance to atovaquone-proguanil is observed and *in vitro* sensitivities to luméfántrine, pipéraquline and dihydroartémisinine remain high. The average susceptibility of isolates to chloroquine continues to rise due to the decline in selective pressures in Africa. There was no evidence of mutations associated with artemisinin resistance in the imported malaria isolates tested. In 2017, chemoprophylaxis is only alleged by the patient in 23.1% of cases. Non-compliance with prevention recommendations remains at the root of most of the imported malaria cases studied.

In terms of the diagnosis and management of imported malaria, an antigenic immunochromatographic test is associated with a method of microscopic diagnosis in 80.4% of diagnoses.

The dihydroartemisinin-piperaquine combination has become the first line of therapy followed by atovaquone-proguanil and artemether-lumefantrine for the management of simple malaria access.

In terms of the efficacy and safety of imported malaria treatments, the few therapeutic failures of atovaquone-proguanil, dihydroartemisinin-piperaquine and artemether-lumefantrine in curative treatment prompt the recommendation of late post-treatment controls (D28) for these drugs with a long elimination half-life. Failure to comply with prevention recommendations is at the root of most of the imported malaria cases studied.

Pôle Zones endémiques

Depuis août 2017 le laboratoire est accrédité selon la norme NF ISO EN 15189 pour la PCR diagnostique d'espèce plasmodiale utilisée dans le cadre des activités d'expertise du CNR.

En 2017, l'exhaustivité du CNR paludisme pour les isolats de Guyane s'est maintenue à un niveau élevé, 74,7% malgré l'augmentation du nombre de cas observé sur la même période, +126% avec 597 cas déclarés à la Cire Guyane. Pour une analyse résumée plus complète, se référer au bulletin de rétro-information en annexe 7 de ce rapport.

Le niveau de sensibilité *in vitro* aux antipaludiques a pu être étudié chez 34 isolats. Un nombre conséquent d'isolats reste à typer. Cela sera effectué courant 2018. Les phénotypages et génotypages réalisés montrent que le niveau de sensibilité des plasmodies aux antipaludiques actuellement recommandés en Guyane est satisfaisant pour la plupart d'entre eux. La vigilance est accrue concernant la pipéraquline et la pyronaridine. Les tests de survie ont eux été réalisés au cours du premier semestre 2017 uniquement puis arrêtés pour dédier les ressources à la campagne de dépistage actif PALUSTOP réalisée sur la commune de St Georges de l'Oyapock entre septembre et décembre 2017. Cette campagne de dépistage s'est accompagnée d'une enquête connaissances-attitudes-pratiques vis-à-vis du paludisme auprès de 1500 habitants de commune. Les résultats obtenus seront détaillées dans le rapport 2018 une fois que la deuxième campagne de dépistage actif aura été réalisée. Ce projet porté par le laboratoire inclus également un axe visant à mieux comprendre la résistance aux artémisinines et à ses molécules partenaires dans la zone, REAGIR. Il est en parti financé par l'ARS Guyane et les fonds européens et permettra de dédier des moyens humains à l'étude des résistances.

En 2017, au niveau international, le laboratoire a déployé ses actions en collaboration avec l'OMS, autour du génotypage *pfk13* au Guyana et au Venezuela en lien avec la résistance de *P. falciparum* aux artémisinines et la surveillance des parasites délétés au niveau des gènes *pfhrp2* et *pfhrp3* impossible à diagnostiquer avec certains tests de diagnostic rapide.

Since August 2017, the laboratory has been accredited according to standard norm NF ISO EN 15189 for the diagnosis method for malaria by real-time PCR. In 2017, the completeness of the NRC Malaria for isolates from French Guiana remained at a high level, 74.7% despite the increase in the number of cases observed over the same period, + 126% with 597 reported cases. For a more complete summary, refer to the feedback bulletin, Appendix 7 of this report.

The level of *in vitro* susceptibility to antimalarial drugs was studied for 34 isolates. A large number of isolates remain to be tested. This will be done during 2018. These phenotyping and genotyping results carried out a level of susceptibility of malaria parasites compatible with regional recommendations. However, vigilance is increased for piperaquine and pyronaridine. The survival tests were carried out during the first semester of 2017 and then, stopped to dedicate resources to the active case detection campaign, PALUSTOP, in the municipality of St Georges de l'Oyapock between September and December 2017. This 1500-inhabitant screening was associated with a knowledge-attitudes-practices study. The results obtained will be presented in the 2018 report once the second active screening campaign will be completed. This project coordinated by the laboratory also includes a research

perspective to better understand the resistance to artemisinins and its partner molecules in the area, REAGIR. It is partly funded by the ARS and European funds and will dedicate human resources to the study of resistance.

In 2017, at the international level, the laboratory deployed its actions in collaboration with WHO: i) *pfk13* genotyping in Guyana and Venezuela in relation to *P. falciparum* resistance to artemisinins and, ii) monitoring of *pfhrp2* and *pfhrp3* deleted parasites impossible to diagnose with certain rapid diagnostic tests.

Table des matières

Table des figures.....	9
Table des tableaux.....	11
1. Missions et organisation du CNR.....	12
1.1. Pôle Zones non endémiques	12
1.2. Pôle Zones endémiques	12
2. Activités d'expertise	13
2.1. Évolutions des techniques	15
2.1.1. Pôle Zones non endémiques.....	15
2.1.2. Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane	15
2.2. Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et troussees	16
2.2.1. Pôle Zones non endémiques.....	16
2.2.2. Pôle Zones Endémiques	16
2.3. Techniques transférées vers d'autres laboratoires.....	16
2.4. Collections de matériel biologique	16
2.4.1. Pôle Zones non Endémiques	16
2.4.2. Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane	17
2.5. Activités d'expertise	17
2.5.1. Pôle Zones non Endémiques	17
2.5.2. Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane	18
2.6. Activités de séquençage	19
2.6.1. Pôle Zones non Endémiques	19
2.6.2. Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane	20
3. Activités de surveillance.....	21
3.1. Description du réseau de partenaires	21
3.1.1. Pôle Zones non Endémiques	21
3.1.2. Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane	25
3.2. Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections.....	30
3.2.1. Pôle Zones non Endémiques	30
3.2.1.1. Estimation du nombre de cas totaux et tendances évolutives	30
3.2.1.2. Attitude prophylactique	43
3.2.1.3. Paludisme de la femme enceinte.....	44
3.2.1.4. Efficacité thérapeutique	44
3.2.2. Distribution des cas de paludisme aux Antilles.....	50
3.2.3. Paludisme grave en 2017.....	50

3.2.3.1.	Cas graves déclarés dans la base CNR du Paludisme en 2017	50
3.2.4.	Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane	56
3.3.	Surveillance de la résistance de <i>P. falciparum</i> aux antipaludiques	57
3.3.1.	Chimiosensibilité de <i>P. falciparum</i> d'importation.....	57
3.3.1.1.	Chimiosensibilité <i>in vitro</i>	57
3.3.1.2.	Génotypage des isolats	63
3.3.1.2.1.	La mutation 76 du gène <i>pfcr1</i> : résistance à la chloroquine	63
3.3.1.2.2.	La mutation du gène <i>pfcytb</i> : résistance à l'atovaquone.....	64
3.3.1.2.3.	Nombre de copies du gène <i>pfmdr1</i> : résistance à la méfloquine et à la luméfántrine	64
3.3.1.2.4.	La mutation du gène <i>pfmdr1</i> : résistance à la méfloquine et à la luméfántrine	64
3.3.1.2.5.	Les mutations du gène <i>pfdhfr</i> : résistance aux antifoliniques	65
3.3.1.2.6.	Polymorphisme du gène K13-propeller	67
3.3.1.2.7.	Evolution des génotypes en 2017	67
3.3.2.	Surveillance des résistances de <i>P. falciparum</i> aux antipaludiques en Guyane	67
3.3.2.1.	Chimiosensibilités	67
3.3.2.2.	Génotypage des isolats	74
3.3.3.	Surveillance des résistances de <i>P. falciparum</i> aux antipaludiques à Mayotte.....	75
3.4.	Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	75
3.4.1.	Contribution à la surveillance du paludisme d'importation	75
3.4.2.	Contribution à la surveillance du paludisme endémique	75
3.4.3.	Contribution à la surveillance internationale en tant que Centre Collaborateur de l'OMS pour la surveillance des résistances aux antipaludiques qu'est le laboratoire de parasitologie.....	76
3.5.	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	76
3.5.1.	Prévalence des délétions des gènes <i>pfhrp2</i> et <i>pfhrp3</i> chez <i>Plasmodium falciparum</i> sur le plateau des Guyanes.....	76
3.5.2.	Prévalence du paludisme hétérogène sur la commune de St Georges de l'Oyapock. 77	
3.5.3.	Foyer épidémique de paludisme autochtone à <i>P. vivax</i> en Guyane à la frontière avec le Brésil, 2017.....	77
3.5.4.	Mise en place d'un laboratoire de chimiosensibilité <i>in vitro</i> à l'Hôpital Principal de Dakar (Sénégal) et évaluation du niveau de résistance aux antipaludiques au Sénégal.....	78
3.5.5.	Evaluation du paludisme en Mauritanie	78
4.	Alerte	78
4.1.	Pôle Zones non Endémiques	78
4.2.	Phénomènes ayant fait l'objet d'un signalement ou d'une alerte	79
4.3.	Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane.....	79

5.	Activités de rétro-information, de formation et de conseil	80
5.1.	Conseil et expertise aux professionnels de santé	80
5.1.1.	Pôle Zones non endémiques	80
5.1.2.	Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane	80
5.2.	Conseil et expertise aux autorités sanitaires	81
5.2.1.	Pôle Métropole	81
5.2.2.	Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane	81
5.3.	Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public...)	82
5.3.1.	Pôle Métropole	82
5.3.2.	Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane	82
6.	Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	82
6.1.1.	Pole Zones non Endémiques	82
6.1.1.1.	Echecs thérapeutiques aux CTA dans le paludisme d'importation à <i>P.falciparum</i> . (présentation orale à la RICAI)	82
6.1.1.2.	Prévalence des délétions des gènes <i>pfhrp2</i> et <i>pfhrp3</i> chez <i>Plasmodium falciparum</i> importé en France métropolitaine	83
6.1.1.3.	Etude du répertoire des anticorps des voyageurs	83
6.1.1.4.	Identification de nouveaux marqueurs moléculaires de résistance	83
6.1.1.5.	Criblage de nouveaux composés potentiellement antipaludiques (<i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>) et développement de nouveaux antipaludiques	84
6.1.2.	Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane	84
6.2.	Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	86
6.2.1.	Publications nationales	86
6.2.2.	Publications internationales	87
6.2.3.	Chapitres d'ouvrage	88
6.2.4.	Communications nationales	88
6.2.5.	Communications internationales	88
6.2.5.1.	Orales	88
6.2.5.2.	Affichées	88
6.2.6.	Conférences sur invitations	89
7.	Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux	89
8.	Programme d'activité pour les années suivantes	89
	Références bibliographiques	91

Table des figures

Figure 1 : Organigramme du CNR Paludisme.....	12
Figure 2. Organigramme du laboratoire de parasitologie, année 2017.....	13
Figure 3. Nombre d'isolats reçus au Pôle Zones endémiques, entre 2012 et 2017.	14
Figure 4 : 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 2017.	22
Figure 5. Réseau de partenaires guyanais.....	25
Figure 6. Carte du risque de paludisme en Guyane, mars 2018.....	26
Figure 7 : Recrutement et exhaustivité atteints entre 2006 et 2017 par le Pôle Zones endémiques.	28
Figure 8. Carte de l'île de Mayotte.	28
Figure 9 : Evolution du paludisme d'importation, cas déclarés, cas estimés et nombre de voyageurs vers les zones impaludées, France métropolitaine 1996 à 2017.	31
Figure 10 : Evolution de taux d'incidence (pour 1000 voyageurs) et de mortalité (pour 100000 voyageurs) du paludisme d'importation en France métropolitaine 1996 à 2017.	31
Figure 11 : Répartition régionale des cas de paludisme déclarés par le réseau des correspondants du CNR du Paludisme, France métropolitaine, année 2017, n = 2716.....	32
Figure 12 : Distribution mensuelle des cas de paludisme déclarés par le réseau des correspondants du CNR du paludisme, France métropolitaine, année 2017, n = 2720.....	32
Figure 13 : Répartition par âge et par sexe des cas de paludisme déclarés par le réseau des correspondants du CNR du paludisme, France métropolitaine, année 2017, n = 2718.....	33
Figure 14 : Evolution annuelle des cas de paludisme d'importation des sujets d'origine africaine (points rouges) et caucasienne (points bleus) entre 1996 et 2017 en regard du nombre de voyageurs en zone d'endémie (points gris). Les courbes de la même teinte désignent les différentes prédictions réalisées pour les populations concernées.	34
Figure 15 : Evolution annuelle des proportions de paludisme d'importation des sujets d'origine africaine et caucasienne entre 1996 et 2017. Les points rouges désignent la proportion des africains, tandis que les points bleus celles des caucasiens. Une droite de régression est ajustée pour chaque groupe et les équations correspondantes sont données dans la figure.	35
Figure 16 : méthodes de diagnostic des accès palustres en 2017	37
Figure 17 : Distribution cas de Paludisme d'importation par espèces, France métropolitaine, 2017, n = 2718	38
Figure 18 : Délai entre la date de retour et le diagnostic de l'accès palustre pour l'espèce <i>Plasmodium falciparum</i>	42
Figure 19 : Protection personnelle anti-moustiques (PPAM) en 2017, n = 1 512.....	43
Figure 20 : Répartition des cas en fonction de l'état clinique, CNR du Paludisme, année 2017, n = 2 601.....	50
Figure 21 : Évolution de la répartition de l'état clinique selon les années de 2007 à 2017	51
Figure 22 : Évolution des cas graves de paludisme d'importation en France de 2000 à 2017.....	51
Figure 23 : Évolution globale et spécifique de la létalité de 2000 à 2017.	53
Figure 24 : Taux d'utilisation de l'Artésunate IV vs. Quinine IV en première intention dans le traitement du paludisme grave d'importation en France 2011-2017 (Données CNR du paludisme d'importation, base non consolidée décembre 2017).....	54
Figure 25. Evolution du nombre de cas déclarés de paludisme en Guyane entre 2006 et 2017.	56
Figure 26. Evolution du nombre de cas grave et hospitalisés liés au paludisme en Guyane entre 2011 et 2017.....	57
Figure 27 : Evolution des chimiosensibilités à la chloroquine en 2016 et 2017	58
Figure 28 : Evolution des chimiosensibilités à la Mono déséthyl-amodiaquine en 2016 et 2017	59

Figure 29 : Evolution des chimiosensibilités à la luméfantrine en 2016 et 2017	59
Figure 30 : Evolution des chimiosensibilités à la pipéraqune en 2016 et 2017	60
Figure 31 : Evolution des chimiosensibilités à la méfloquine en 2016 et 2017	60
Figure 32 Evolution des chimiosensibilités à la quinine entre 2016 et 2017	61
Figure 33 : Evolution des chimiosensibilités à la dihydroartémisinine en 2016 et 2017	61
Figure 34 : Evolution des chimiosensibilités à la pyronaridine en 2016 et 2017	62
Figure 35 Evolution des chimiosensibilités à la doxycycline en 2016 et 2017	62
Figure 36 . Niveau de sensibilité <i>in vitro</i> de <i>P. falciparum</i> envers dix molécules testés en 2017 en comparaison avec les données antérieures disponibles.	69
Figure 37 . Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2017 : chloroquine (gauche), atovaquone (droite).	70
Figure 38 . Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2017 : quinine (gauche), doxycycline (droite).	71
Figure 39 . Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2017 : dihydroartémisinine (gauche), artéméther (droite).....	72
Figure 40 . Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2017 : luméfantrine (gauche), mefloquine (droite).	73
Figure 41 . Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2017 : monodéséthyl- amodiaquine (gauche), pyronaridine (droite).	74
Figure 42 . Stratégie de lutte contre le paludisme dans une région en fonction du niveau de transmission.	84

Table des tableaux

Tableau 1. Activités d'expertise réalisées en 2017 en lien avec le nombre d'isolats reçus.	19
Tableau 2 : Nombre de cas déclarés (dont les rechutes) et nombre d'isolats transmis à l'un des sites d'analyse du CNR du paludisme en 2017 par hôpital correspondant.	22
Tableau 3. Partenaires du Pôle Zones endémiques (PZE) en Guyane: localisation, fréquence des liaisons avec Cayenne et niveau de participation à la surveillance biologique du paludisme en 2017.	29
Tableau 4 : Cas déclarés et cas estimés de paludisme en France métropolitaine, tendances évolutives 2013 -2017	30
Tableau 5 : Répartition des hommes et des femmes en fonction des tranches d'âge pour la population totale, France métropolitaine, année 2017, n = 2717.....	33
Tableau 6 : Répartition des hommes et des femmes en fonction de l'origine ethnique caucasienne et Africaine en 2017 (n= 2178).	34
Tableau 7 : Répartition des cas en fonction du profil épidémiologique et de la région d'endémie visitée en 2017, France métropolitaine, n = 1865.	36
Tableau 8 : Répartition des cas en fonction du profil épidémiologique pour les 10 pays de contamination les plus fréquemment cités en 2017, n=1789.....	36
Tableau 9 : méthodes de diagnostic déclarées (n=2718).....	37
Tableau 10 : Répartition des espèces en effectifs et en pourcentages dans les différentes régions et sous continents en 2017 pour la population totale.	39
Tableau 11. Types des accès cliniques en effectifs et en pourcentages en fonction des espèces plasmodiales pour la population totale en 2017, n = 2 601.....	40
Tableau 12. 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 2017, n = 2 144.	41
Tableau 13. Délai diagnostic (en jours) en fonction de l'espèce plasmodiale pour l'année 2017, n = 2272.....	41
Tableau 14. 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 2017.	42
Tableau 15. Molécules utilisées en chimioprophylaxie en fonction de l'observance déclarée pour la population totale à <i>Plasmodium falciparum</i> en 2017 (n=390)	44
Tableau 16. 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 en 2017.....	45
Tableau 17. 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 2017.	45
Tableau 18 : Proportion d'isolats mutés <i>pfcr1</i> K76T par pays et par année	63
Tableau 19 : Proportion d'isolats mutés <i>pfmdr1</i> N86Y par pays et par année.....	64
Tableau 20 : Proportion d'isolats triple mutés <i>pfdhfr</i> S108N, N51I, C59R par pays et par année	66

1. Missions et organisation du CNR

Le CNR du paludisme est organisé en 4 laboratoires, un laboratoire coordonnateur et 3 laboratoires associés (Figure 1), répartis en 2 pôles, le pôle « zones non endémiques » et le pôle « zones endémiques ».

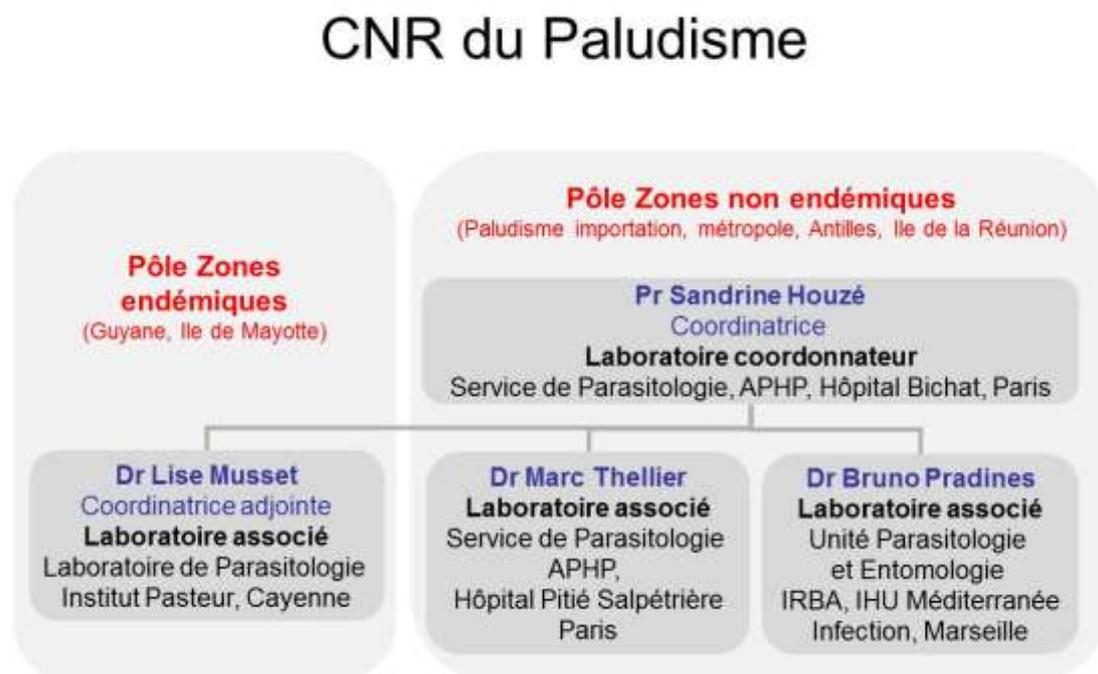


Figure 1 : Organigramme du CNR Paludisme

1.1. Pôle Zones non endémiques

Les annexes ont été mises à jour concernant les équipes du laboratoire coordonnateur, les locaux du laboratoire associé de l'IRBA et les collections. Par rapport au rapport de 2017, les évolutions intervenues au niveau du CNR Paludisme concernent les locaux de l'Unité Parasitologie et entomologie de l'IRBA, laboratoire associé, qui ont été transférés de l'Hôpital d'instruction des armées Laveran vers l'Institut hospitalo-universitaire (IHU) Méditerranée Infection de Marseille en octobre 2018. Ces nouveaux locaux étaient déjà présentés dans la demande de candidature.

La démarche d'accréditation suit la norme internationale homologuée NF EN ISO 15189. Cette norme est la preuve de la compétence technique du laboratoire. L'unité de parasitologie du laboratoire de l'hôpital Bichat a été accréditée pour le diagnostic du paludisme, complétant ainsi les examens accrédités dans le laboratoire. L'unité de parasitologie du laboratoire de l'hôpital Pitié-Salpêtrière a été confirmée dans son accréditation le 01 avril 2018 jusqu'au 31 mars 2023 pour les méthodes reconnues, adaptées ou développées (portée B) pour la recherche et l'identification de parasites en microscopie optique et par biologie moléculaire (pcr, hybridation, séquençage...), attestation d'accréditation N° 8-3253 rév. 9. L'Unité Parasitologie et entomologie de l'IRBA, laboratoire associé, est en train de s'intégrer dans une démarche d'accréditation globale avec le plateau de biologie médicale de l'IHU Méditerranée Infection.

1.2. Pôle Zones endémiques

Les annexes ont été mises à jour concernant l'équipe et la taille des collections. En 2017, la responsable s'est absentée pour congé maternité. Un responsable par intérim a été nommé,

M Pelleau Stéphane. Par ailleurs, les validations biologiques des résultats étaient assurée par Mme Léna Berthelot ayant travaillé au sein du laboratoire et sur la période, étant affectée au laboratoire de virologie de l'IPG (**Figure 2**).

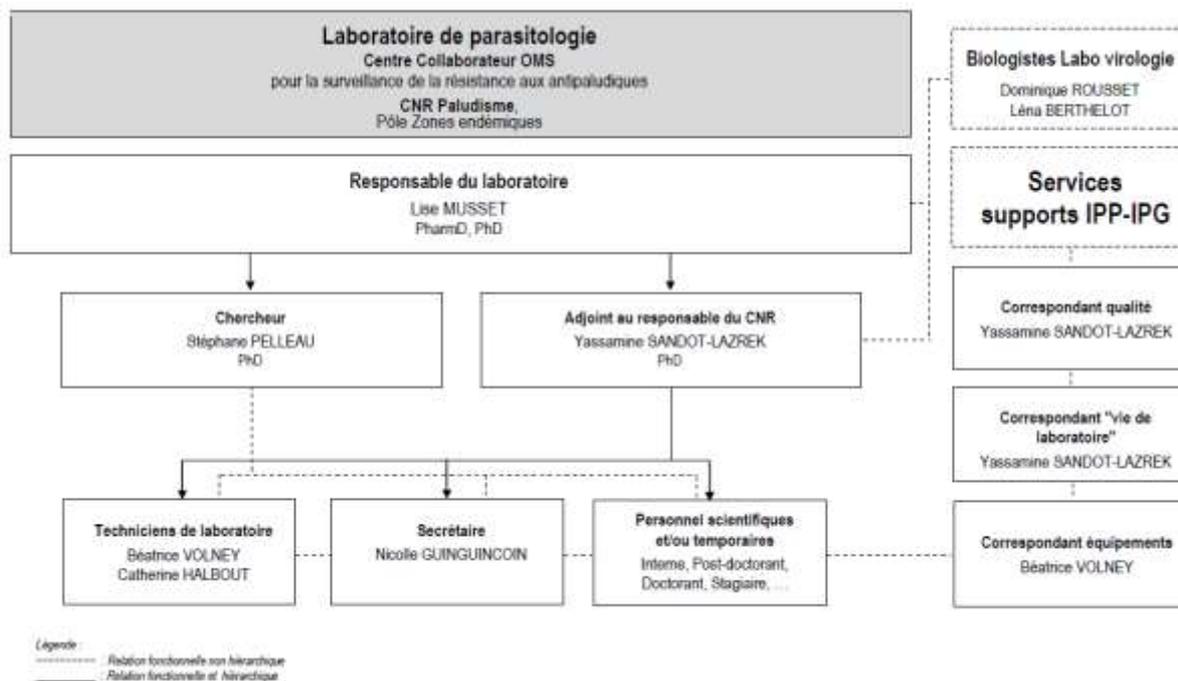


Figure 2. Organigramme du laboratoire de parasitologie, année 2017.

Les activités du laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de la Guyane sont entrées dans le périmètre d'accréditation NF ISO EN 15189 en août 2017.

2. Activités d'expertise

Pôle Zones non Endémiques – Eléments clés

On retrouve en 2017, sur la base sécurisée Internet <https://ssl.voozadoo.net/palu> du CNR du Paludisme :

- 2719 fiches déclarées (dont 2 cas de paludisme autochtone) par 83 hôpitaux (dont 5 militaires), 1 Département d'Epidémiologie et de Santé Publique (DESP)

- 2721 isolats associés aux déclarations transmis au CNR du paludisme dont 1857 au laboratoire coordonnateur, 522 au laboratoire associé de la Pitié-Salpêtrière et 342 au laboratoire associé de l'IRBA, par les hôpitaux correspondants du CNR qui participent à l'expertise biologique des isolats des Plasmodium sp.

De plus, en 2017, le laboratoire coordonnateur de Bichat a reçu 196 prélèvements sanguins, non associés à une déclaration épidémiologique d'un cas de paludisme. Sur les prélèvements reçus, 776 PCR d'espèce ont été réalisés dont 50 ont permis d'exclure un accès palustre.

Sur les prélèvements transmis, les laboratoires de Bichat et de l'IRBA ont réalisé 1661 génotypages pour l'étude des résistances aux antipaludiques, 393 phénotypages pour l'étude de la sensibilité aux antipaludiques. Le laboratoire de la Pitié a réalisé 522 mesures des érythrocytes pîtés pour le dépistage de l'anémie retardée chez 221 patients traités par artésunate intraveineux, dont 506 (96,9) avec un résultat validé exploitable.

En 2017, l'analyse des échecs thérapeutiques aux ACT avec en corollaire, la recherche de nouveaux marqueurs moléculaires associés a été développée ainsi que la confirmation d'espèce plasmodiale (ou l'exclusion d'un accès palustre) associée au développement des techniques moléculaires dans les laboratoires d'analyse médicale privés ou hospitaliers.

Deux cas de paludisme autochtone ont été déclarés en France métropolitaine qui ont été explorés en relation avec l'agence de Santé Publique France.

Pôle Zones Endémiques – Eléments clés

En 2017, une PCR diagnostique d'espèce multiplex en temps réel a été développée et accréditée. Le rendu de résultats pour ce diagnostic secondaire s'effectue dans les 5 jours. Cette PCR a été employée pour plus de 2067 prélèvements toutes activités confondues. Neuf demandes d'expertise dans le cadre du dépistage passif ont été demandées.

L'activité globale 2017 a été très soutenue (**Figure 3**) avec une très grosse campagne de dépistage actif menée sur la commune de St Georges de l'Oyapock auprès de 1566 personnes. Cette campagne de dépistage actif s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche opérationnel financé en grande partie par les fonds européen FEDER, mais aussi l'ARS Guyane. Le soutien de Santé Publique France pour la période 2017-2021 a notamment permis un co-financement de ce projet en lien avec le Centre Hospitalier de Cayenne.

En 2017, les activités internationales se sont poursuivies dans l'objectif d'étudier les résistances et la pertinence des méthodes diagnostiques au Guyana et au Venezuela. Les activités de conseil et d'expertise se sont poursuivies en Guyane. A Mayotte, ces activités n'ont pas pu débuter et ont été assurées par le CNR Pôle paludisme d'importation.

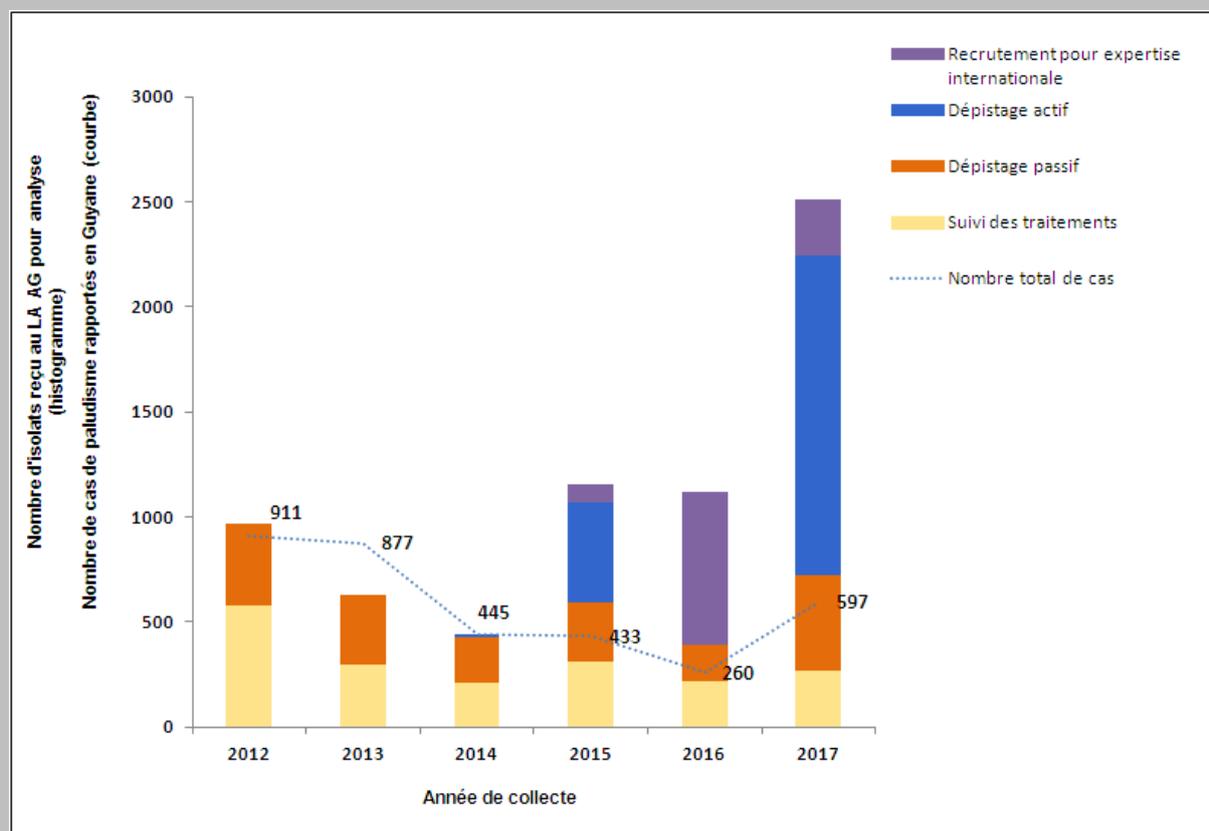


Figure 3. Nombre d'isolats reçus au Pôle Zones endémiques, entre 2012 et 2017.

Courbes : nombre de cas déclarés à la CIRE Guyane. Histogrammes : nombre d'isolats reçus et dans quel cadre.

2.1. Évolutions des techniques

2.1.1. Pôle Zones non endémiques

Le laboratoire coordonnateur de Bichat a mis en place :

- de nouvelles techniques pour l'expertise des résistances aux combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine : test de survie après exposition à la dihydro-artémisinine (RSA)¹, et après exposition à la pipéraquline (PSA)² et évaluation du nombre de copies du gène de la plasmepsine 2³.
- une nouvelle PCR commerciale, Plasmodium Typage, Bioevolution en remplacement de la PCR FTD Malaria differentiation, Fast TRack Diagnostics pour la confirmation des espèces plasmodiales impliquées dans les diagnostics expertisés : le coffret Plasmodium typage présente l'avantage d'avoir un contrôle de qualité interne d'extraction et de permettre l'identification des 5 espèces pathogènes pour l'homme (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi*).
- le réactif Illumigen® Malaria, Méridian diagnostics pour le dépistage des prélèvements positifs à *Plasmodium* sp. Cette méthode permet l'obtention d'un résultat en 40 minutes. Elle est en cours de déploiement dans les laboratoires d'analyses médicales, en cas de positivité isolée, avec recherche microscopique négative, le prélèvement peut nous être transmis pour confirmation diagnostique.

Le laboratoire associé de la Pitié-Salpêtrière a

- mis au point et évalué l'utilisation d'un test de diagnostic rapide pour la prédiction de l'anémie retardée des patients traités par artésunate intraveineux.
- mis au point et évalué une technique de mesure de la parasitémie en microscopie optique à l'aide d'une cellule de Miller en comparaison avec la méthode traditionnelle sans cet outil. L'incertitude de mesure des deux techniques a été évalué (article en cours de rédaction).

Le laboratoire associé de Marseille a mis en place :

- de nouvelles techniques pour l'expertise des résistances aux combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine : évaluation du nombre de copies du gène de la plasmepsine 2.
- de nouvelles techniques pour identifier et valider de nouveaux marqueurs moléculaires potentiellement impliqués dans la résistance aux antipaludiques (gènes *pfcr1*, *pfmdr5*, *pfmdr6*, exonucléase, RING E3 ubiquitin protein ligase, *pfact*, *pfugt*, *pfcarl*, ...).

2.1.2. Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane

Mise au point d'une PCR diagnostique d'espèce en temps réel

Cette PCR diagnostique a remplacé la méthode de PCR nichée historiquement utilisée appelée couramment la méthode Snounou. Cette PCR en temps réel multiplex s'effectue en trois PCR pour diagnostiquer quatre espèces : *Plasmodium falciparum*, *vivax*, *ovale* et *malariae*. Un témoin d'extraction est inclus à savoir l'amplification du gène codant la mégaglobuline (MG) humaine. Ainsi une manipulation recherche *P. falciparum* et *P. vivax*, une deuxième *P. ovale* et *P. malariae* et la troisième la mégaglobuline. Les sensibilités ont été déterminées alors que les PCR étaient faites en deux manipulations, Pf/Pv/MG et Pm/Po. Elles sont à 1 parasite par microlitre pour les trois espèces sauf *P. falciparum* dont la sensibilité est uniquement comprise entre 1 et 2,5P/µl. Depuis l'amplification

¹ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24035558>

² <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5154433/>

³ www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27818097

de la MG a été isolée pour augmenter la sensibilité. Ceci c'est vérifier sur plusieurs prélèvements de patients sans que l'on est eu le temps pour l'instant de déterminer la sensibilité exacte. Cette technique entre dans le champ d'accréditation de la norme NF EN ISO 15189 version 2012 protégée B des activités de biologie médicale de l'Institut Pasteur de la Guyane.

Modification génétique dirigée des parasites encore appelée : transfection

La transfection parasitaire a été développée au laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de la Guyane. Elle est effectuée chez des parasites de Guyanes récemment adaptés à la multiplication *in vitro* ce qui la rend unique chez des isolats sud-américains. L'objectif de ce développement est de caractériser la résistance aux artémisinines et à leurs dérivés. Cette technique consiste modifier les parasites à l'aide de nucléases à doigt de zinc (Zinc Finger Nucleases) qui permettent de découper l'ADN à un endroit bien précis.⁴ On introduit ainsi une portion du gène *pfK13* modifiée qui porte la mutation étudiée. Les parasites génétiquement modifiés ainsi obtenus sont clonés puis exposés aux antipaludiques par l'intermédiaire des tests de survie *in vitro* pour mesurer l'impact de la mutation introduite sur leur sensibilité aux dérivés de l'artémisinine.

2.2. Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

2.2.1. Pôle Zones non endémiques

Le laboratoire coordonnateur de Bichat a initié l'évaluation d'un coffret de tests de diagnostic rapide, Rida® Quick malaria, distribué par R Biopharm, qui détecte la PfHRP2 et l'aldolase : 123 échantillons ont été inclus (50 négatifs, 50 positifs à *P. falciparum* et 23 positifs à une espèce autre que *P. falciparum*). Le réactif évalué a été comparé au frottis et à la goutte épaisse, et au TDR SD Bioline testés en 2017. Un nouveau programme d'évaluation pour compléter l'acquisition de données particulièrement sur les espèces autres que *P. falciparum* sera mis en place en 2018.

2.2.2. Pôle Zones Endémiques

En 2017, aucune activité de ce type n'a été déployée au CNR Paludisme Zones endémiques.

2.3. Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Aucune technique n'a été transférée vers d'autres laboratoires à partir d'un des laboratoires du CNR Paludisme.

2.4. Collections de matériel biologique

2.4.1. Pôle Zones non Endémiques

Au laboratoire coordonnateur de Bichat, les isolats parasitaires sont cryopréservés si la quantité de prélèvement reçue le permet. L'état précis de la collection en lien avec les activités du CNR figurent en annexe 1. Les plasmas des prélèvements sanguins reçus sont décantés et conservés à -20°C. L'ADN parasitaire est systématiquement extrait et conservé à -20°C. Les mêmes procédures de stockage sont appliquées par le laboratoire associé de Marseille.

Au laboratoire associé de la Pitié-Salpêtrière, le sang total et les plasmas des prélèvements sanguins reçus sont conservés à -20°C. L'ADN parasitaire est lui aussi le plus souvent extrait et conservé à -20°C.

⁴ Straimer, J., N. F. Gnadig, B. Witkowski, C. Amaratunga, V. Duru, A. P. Ramadani, M. Dacheux, N. Khim, L. Zhang, S. Lam, P. D. Gregory, F. D. Urnov, O. Mercereau-Puijalon, F. Benoît-Vical, R. M. Fairhurst, D. Menard, and D. A. Fidock. 2015. K13-propeller mutations confer artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* clinical isolates. *Science* 347:428-431.

2.4.2. Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane

Les isolats de *P. falciparum* sont systématiquement mis en culture afin de développer une collection de parasites vivants cryopréservés d'intérêt pour l'étude des mécanismes de résistance et l'identification/validation de marqueurs génétiques de résistance. Le taux de réussite de ces adaptations est de plus de 90%. Ce succès intervient parfois jusqu'à 7 jours après le prélèvement des parasites. Le plus tôt étant bien évidemment le mieux. Ainsi en 2017, 56 isolats de *P. falciparum* ont été adaptés à la multiplication *in vitro* (J0, jour de suivi et doublon inclus). L'état précis de la collection en lien avec les activités du CNR figurent en annexe 1.

En 2017, des souches issues de l'adaptation d'isolats ont été partagées dans le cadre de collaboration visant à mieux comprendre la résistance à l'artémisinine en Amérique du Sud (collaboration avec le laboratoire de D. Fidock de l'Université Columbia à New York). Un partage d'échantillon d'ADN a également eu lieu avec l'Université d'Harvard et le laboratoire de D. Neafsey dans l'objectif de mieux comprendre l'évolution de la diversité génétique de *P. falciparum* en Guyane sur plusieurs années et ce en fonction du niveau de transmission et des pressions médicamenteuses.

2.5. Activités d'expertise

2.5.1. Pôle Zones non Endémiques

En 2017, le Pôle Zones non endémiques a reçu 2199 isolats de patients impaludés transmis par 83 correspondants hospitaliers (Tableau 2). Parmi ces isolats, on en dénombrait 1831 infectés par *P. falciparum*, 47 par *P. vivax*, 148 par *P. ovale*, 46 par *P. malariae*,

En 2017, 393 tests *in vitro* de chimiosensibilité ont permis d'évaluer la sensibilité des isolats de *P. falciparum* aux antipaludiques : chloroquine, amodiaquine, pipéraquline, méfloquine, quinine, dihydroartémisinine, pyronaridine, doxycycline ; 50 tests de survie après exposition à la dihydroartémisinine et à la pipéraquline ont été réalisés.

Les études de génotypage ont portées sur :

- l'étude du gène *pfcytb*, impliqué dans la résistance à l'atovaquone-proguanil, qui a été réalisée pour 420 isolats de *P. falciparum* dont 40 pour lesquels une suspicion d'échec prophylactique ou thérapeutique était notifiée,
- l'étude du gène *pfcr*, impliqué dans la résistance à la chloroquine, qui a été réalisée pour 942 isolats de *P. falciparum*,
- l'étude du gène *pfdhfr*, impliqué dans la résistance au proguanil, qui a été réalisée pour 542 isolats de *P. falciparum*,
- l'étude du gène *pfmdr1*, impliqué dans la résistance à plusieurs antipaludiques (mefloquine, luméfantine, amodiaquine, pipéraquline), qui a été réalisée pour 799 isolats de *P. falciparum*,
- l'étude du gène *pfK13*, impliqué dans la résistance aux dérivés de l'artémisinine, qui a été réalisée pour 1455 isolats de *P. falciparum* parmi lesquels aucun ne présentait les mutations associées à la résistance aux dérivés de l'artémisinine,
- l'analyse de l'expression du nombre de copies du gène *pfmdr1* impliqué dans la résistance à la méfloquine, et à la luméfantine, sur 769 isolats.

Excepté les PCR diagnostiques d'espèce dont les résultats sont communiqués aux prescripteurs dans un délai maximum de sept jours, les autres analyses font l'objet d'analyses groupées au cours de l'année dans l'objectif d'un suivi épidémiologique des tendances. Des analyses par dossier peuvent se faire en cas d'échec thérapeutique mais pas à visée de prise en charge compte-tenu des délais d'obtention des résultats, sauf en cas de sollicitation du clinicien et si les résultats sont disponibles. Les résultats sont accessibles aux correspondants via le serveur sécurisé Voozanoo.

Pour la mesure des hématies pîtées, l'analyse est incluse dans la routine du laboratoire, les tests sont réalisés de 1 à 3 fois par semaine en fonction du nombre d'isolats à tester (N=522 en 2017). Le délai moyen de rendu d'un résultat est de 5 jours. Ces résultats doivent pouvoir être exploités par les cliniciens pour adapter le suivi des patients avec un accès grave traités par artésunate intraveineux (N=221 en 2017).

2.5.2. Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane

En 2017, le Pôle Zones endémiques a reçu 446 isolats de patients impaludés en provenance de 12 partenaires (Tableau 1). Parmi ces isolats, on en dénombrait 48 infectés par *P. falciparum*, 390 par *P. vivax*, 8 coinfectés par *P. falciparum* et *P. vivax*. Ont également été reçus, 11 isolats négatifs. Ainsi le niveau d'exhaustivité a encore augmenté et ce malgré une reprise importante de la transmission et une forte augmentation du nombre de cas, 74,7% (n=446/597).

Au-delà de ces isolats « J0 » reçus dans le cadre du dépistage passif, le laboratoire a également reçu en 2017 267 prélèvements dans le cadre du suivi de l'efficacité thérapeutique des antipaludiques conduite en partenariat avec le CHAR et le service de santé des armées.

Sur cette période, le nombre de cas de paludisme déclarés à la suite d'un diagnostic passif de paludisme a largement augmenté. Le rôle du CNR a été d'accompagner les autorités sanitaires dans la caractérisation des foyers de transmission. Ainsi un petit foyer de transmission a été observé à Kayodé le long du Maroni. Le CNR a participé au côté de l'ARS, du CHAR et du Service de Santé des Armées à une mini campagne de dépistage actif dans la localité concernée. Aucun porteur de parasite n'a été retrouvé par PCR sur 24 personnes prélevées. Une grande enquête de dépistage actif a également été conduite le long de l'Oyapock auprès de 1566 personnes (§ études concourant à la surveillance).

En 2017, une PCR diagnostique d'espèce multiplex en temps réel a été développée et accréditée. Le rendu de résultats pour ce diagnostic secondaire s'effectue dans les 5 jours. Cette PCR a été employée pour plus de 2067 prélèvements toutes activités confondues. Neuf demandes d'expertise dans le cadre du dépistage passif ont été demandées (Tableau 1).

En 2017, 42 tests *in vitro* de chimiosensibilité ont été effectués avec un pourcentage de succès de la méthode de 64,4% pour la luméfántrine. Ainsi, la chimiosensibilité à onze molécules de 34 isolats de *P. falciparum* a pu être déterminée. Les études de génotypage ont portées sur :

- L'étude du gène *pfcytb*, impliqué dans la résistance à l'atovaquone-proguanil, qui a été réalisée pour 57 isolats de *P. falciparum* parmi lesquels aucun mutants 268 n'a été observé,
- l'étude du gène *pfK13*, impliqué dans la résistance aux dérivés de l'artémisinine, qui a été réalisée pour 64 isolats de *P. falciparum* parmi lesquels un était ininterprétable et aucun mutés. Cette analyse a également été étendue à 198 isolats en provenance du Guyana et 67 en provenance du Venezuela.

Excepté la PCR diagnostique multiplex qui est rendu au prescripteur dans les cinq jours, les autres analyses ne font pas l'objet d'un rendu de résultat individuel pour le patient mais sont uniquement analysées de manière groupée pour un suivi des tendances. Des analyses par dossier peuvent se faire en cas d'échec thérapeutique mais pas à visé de prise en charge sauf en cas de sollicitation du clinicien et si les résultats sont disponibles. Nous ne disposons en général dans le meilleur des cas que des résultats de phénotypage.

Tableau 1. Activités d'expertise réalisées en 2017 en lien avec le nombre d'isolats reçus.

Activité d'expertise	Provenance	2017	Activités et analyses conduites sur les échantillons
Dépistage passif	Partenaires guyanais (cf)	48 <i>Pf</i>	Phénotypage (isotopique, RSA/PSA) Génotypage (<i>pfcytb</i> , <i>pfK13</i> , <i>pfhrp</i>)
		8 <i>Pf/Pv</i>	
		390 <i>Pv</i>	Etudes ponctuelles concurrent à la surveillance
		10 ND	PCR diagnostique le plus souvent
Demande d'expertise diagnostique		9 ND	PCR diagnostique pour des dossiers compliqués
Suivi efficacité thérapeutique		267 <i>Pf</i> et/ou <i>Pv</i>	Variable en fonction des dossiers (génotypage, dosage plasmatique, phénotypage)
Dépistage actif	Palustop	1566 ND	Dépistage actif par PCR + étude CAP
	Kayodé	24 ND	Dépistage actif par PCR
Expertise internationale	Guyana	198 <i>Pf</i>	Génotypage <i>pfK13</i> et <i>pfhrp</i>
	Venezuela	67 <i>Pf</i>	

CAP : Connaissances, Attitudes et Pratiques ; ND : Non Déterminé ; PCR : Réaction de Polymérisation en Chaîne (Polymerase Chain Reaction) ; *Pf* : *Plasmodium falciparum* ; *pfcytb* : gène codant le cytochrome *b* en lien avec la résistance à l'atovaquone-proguanil ; *pfhrp* : gènes codant les protéines riches en histidine 2 et 3 en lien avec la détection de *Pf* par certains tests de diagnostic rapide ; *pfK13* : gène codant pour la Kelch protéine en lien avec la résistance aux artémisinines ; *Pv* : *Plasmodium vivax*.

2.6. Activités de séquençage

2.6.1. Pôle Zones non Endémiques

Le laboratoire coordonnateur du CNR externalise ses analyses de séquençage auprès d'une plateforme commerciale (Eurofins) et collabore avec l'Institut Cochin pour le séquençage génome entier de certains isolats remarquables. Une des principales difficultés pour l'analyse du génome entier plasmodial est d'éliminer l'ADN humain ou d'isoler l'ADN plasmodial à partir des prélèvements sanguins primaires : cette étape délicate et consommatrice de matériel limite le déploiement de cette méthode. Nous avons séquencé 17 isolats associés à un échec thérapeutique aux combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine pour rechercher de nouveaux marqueurs moléculaires de résistance plasmodiales : des gènes putatifs ont été identifiés qu'il faut confirmer sur d'autres échantillons et par d'autres méthodes.

A ce jour, il n'y a pas de compétences spécifiques en bio-informatique au sein du CNR. Les analyses bio-informatiques des données générées ont été réalisées par Frédéric Arieu, de l'Institut Cochin, et par Romain Coppée, doctorant à l'UMR 216 de l'université Paris Descartes.

Pour la surveillance des résistances aux antipaludiques, les recherches des mutations au sein des gènes *pfdhfr*, *pfcyt b*, *pfmdr1* et *K13* sont réalisées par PCR puis séquençage des produits d'amplification obtenus : les PCR sont réalisées dans le laboratoire du CNR et les produits de PCR sont transmis pour séquençages à la société Eurofins. Le séquençage d'une partie spécifique du gène *K13* a été réalisé sur l'ensemble des isolats de *P. falciparum* car c'est le marqueur le plus prégnant du risque d'apparition de la résistance aux ACT en Afrique. Pour les autres gènes, la sélection des isolats sur lesquels les séquences des gènes sont analysées est faite selon les données thérapeutiques ou prophylactiques transmises : succès ou échec. L'obtention de données relatives à ces gènes associés à des résistances en l'absence de données d'efficacité associées restreint l'analyse et l'exploitation des données générées.

Le laboratoire associé de Marseille possède sa propre plateforme de séquençage (Sanger, analyse de fragments, nombre de copies de gènes) et a accès à la plateforme de séquençage et à l'expertise bio-informatique de l'IHU Méditerranée Infection (WGS, NGS). En 2017, aucun génome total n'a été séquencé. En 2017, 310 isolats de *P. falciparum* (304 de France et 16 de Mayotte) ont été séquencés pour les gènes *pfcr1*, *pfdhfr*, *pfmdr1*, *pfk13* pour la recherche de résistance dans la cadre de la surveillance et 250 isolats pour l'identification-validation à des fins de recherche de gènes potentiellement impliqués dans la résistance aux antipaludiques (*pfmdr5*, *pfmdr6*, exonucléase, RING E3 ubiquitin protein ligase, *pfact*, *pfugt*, *pfcarl*).

2.6.2. Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane

Le Pôle Zones Endémiques utilise de plus en plus le séquençage génome entier pour analyser les isolats et leur 32 mégabases de génome répartis en 14 chromosomes. En lien avec les données de phénotypage qu'il génère pour *P. falciparum*, c'est un outil très puissant pour identifier de nouveaux marqueurs de résistance. C'est cette approche qui a été utilisée en 2014 pour identifier une mutation dans le gène *pfcr1* qui était responsable du retour de la sensibilité à la chloroquine et qui, au-delà de la chloroquine, présentait probablement un avantage sélectif vis-à-vis d'autres molécules puisque cette dernière n'est plus utilisée pour traiter *P. falciparum* depuis 1995 (Pelleau et al., 2015).

Le CNR s'est ainsi équipé en matériel de stockage de séquence et est en cours de mise en place d'outils d'analyse simples des séquences générées et tout particulièrement des fichiers « fastq ». Dans un premier temps, l'expertise bioinformatique est réalisée par notre collaborateur, D. Neafsey travaillant au Broad Institute et à l'Université d'Harvard. Les séquençages réalisés jusqu'alors ont été faits par le biais de ce collaborateur et par la plateforme à laquelle il a accès, plateforme du Broad Institute, moyennant finances. Les outils d'analyse utilisés sont des outils « maison » développés par le partenaire du fait de son expertise des génomes plasmodiaux.

Ce séquençage mis en place vise à répondre à des questions ayant des fins de santé publique. En effet, le laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de la Guyane ne développe que des thématiques de recherche en santé publique avec pour philosophie, que les activités de recherche et de santé publique s'éclairent l'une l'autre. Sont ainsi abordé grâce à ces analyses de génome entier :

- La recherche d'un marqueur de résistance à la pipéraquline :
 - n=19,
 - Recherche en santé publique pour faciliter la surveillance,
 - Sélection en fonction du phénotype.
- L'analyse de l'évolution de la diversité génétique de *P. falciparum* en Guyane en fonction des pressions médicamenteuses et de l'intensité de transmission (investigation de l'endémie guyanaise) ou encore l'analyse du fond génétique guyanais actuellement présent pour voir si les marqueurs génétiques en lien avec l'émergence de la résistance aux artémisinines en Asie du Sud Est sont présents (recherche en santé publique pour prédire la rapidité d'émergence de la résistance aux artémisinines) :
 - n=192,
 - pour les plus anciens, sélection en fonction de la parasitémie et de la quantité de matériel restant, pour les plus récents, en fonction de la présence parasites vivants cryopréservés au laboratoire et d'ADN issu des cultures *in vitro* pour limiter la quantité d'ADN humain et donc augmenter la couverture obtenue.
- L'analyse d'isolats mutés afin de déterminer le nombre de points d'émergence et étudier leur propagation dans la zone,
 - n = 55,
 - Surveillance permettant d'affiner les connaissances autour de l'émergence de la résistance,

- Parasites mutés et non mutés appariés sur la période et la zone géographique.

Une partie des fichiers « fasq » sont disponibles au sein du CNR. L'autre partie est encore chez notre partenaire. Ces fichiers sont pour partie rendus publique pour ceux qui ont servis à étudier le retour de sensibilité à la chloroquine. Pour le reste, ils sont encore privés partagés par le CNR et son partenaire.

3. Activités de surveillance

Pôle Zones non Endémiques – Eléments clés

Les activités de surveillance concernant la France hors Guyane montrent une augmentation de 11,1% du nombre de cas déclarés par rapport à 2016, à correspondants constants (2721 vs 2450), soit une augmentation du nombre total de cas estimés de + 10,3% (5222 vs 4735).

Le niveau de sensibilité *in vitro* de *P. falciparum* aux antipaludiques reste stable et les thérapeutiques recommandées par la mise à jour 2017 de la conférence de consensus de 2009 sont adaptées. Des échecs thérapeutiques tardifs aux ACT sont observés sans être associés à une résistance des parasites à l'artémisinine. L'absence de respect des recommandations prophylactiques reste le facteur de risque principal de développer un accès palustre.

Pôle Zones Endémiques – Eléments clés

L'ensemble des activités de surveillance concernant la Guyane sont résumées dans le bulletin de rétro-information de l'année 2017 figurant en annexe 7.

Le niveau d'exhaustivité du Pôle Zones Endémiques par rapport au nombre de cas déclarés en Guyane est en augmentation, 74,7% en 2017 vs 61,9% en 2016 et ce malgré l'augmentation de la transmission. Le nombre absolu d'échantillons reçus est bien plus élevé qu'en 2016 (446 vs 174) si on ne considère que le dépistage passif.

Le niveau de sensibilité *in vitro* de *P. falciparum* aux antipaludiques reste stable et les thérapeutiques recommandées par la conférence de consensus de 2002 sont toujours adaptées.

3.1. Description du réseau de partenaires

3.1.1. Pôle Zones non Endémiques

Les correspondants du Pôle Zones non Endémiques (ZNE) sont des correspondants hospitaliers métropolitains ou des départements régions d'outre-mer (DROM) : 83 correspondants réguliers notifient les cas de paludisme sur la base sécurisée Voozadoo : <https://ssl.voozadoo.net/palu/>. La représentativité du réseau est stable depuis 2006 entre 52 et 53 % selon les années. Des demandes de participation aux activités du CNR émanent de certaines structures hospitalières ou de laboratoires de biologie médicale privée : la nécessité d'associer les données épidémiologiques aux données biologiques de la déclaration limite cette participation, mais cette obligation est indispensable à l'activité de surveillance du CNR.

Avant analyse des données 2017, 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) (**Figure 4**). 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.

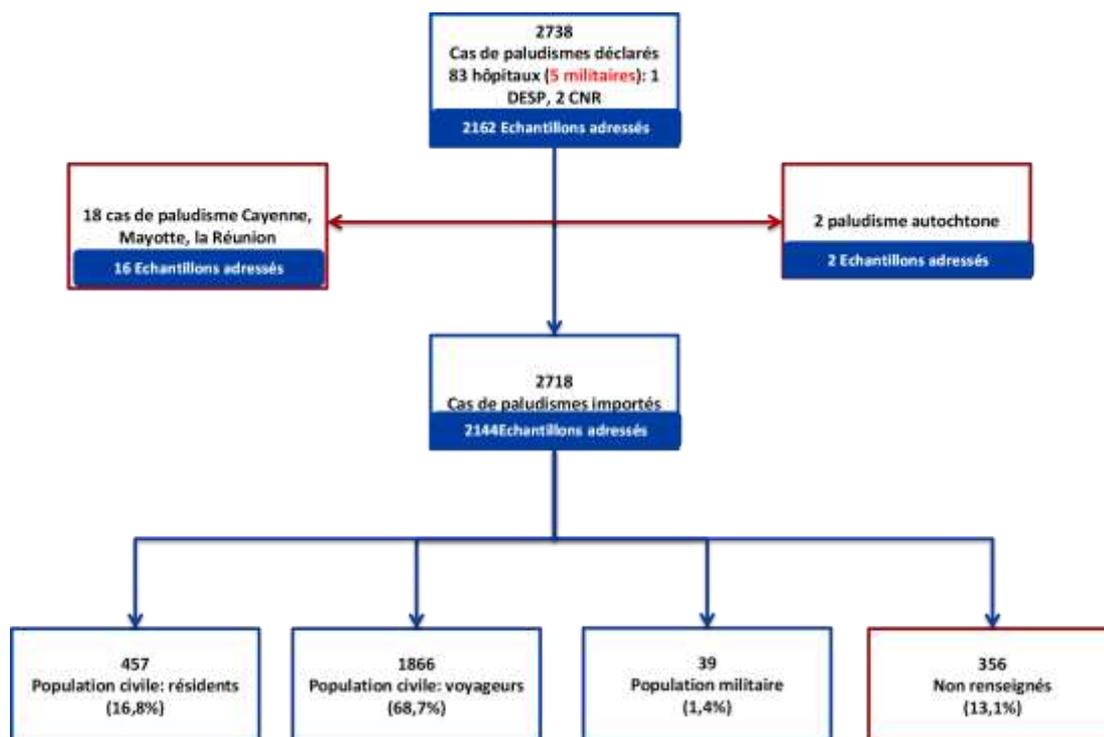


Figure 4 : Distribution des cas de paludisme déclarés par les correspondants du réseau du CNR du Paludisme en France métropolitaine en fonction des trois grands profils épidémiologiques pour l'année 2017.

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 (**Tableau 2**).

Tableau 2 : Nombre de cas déclarés (dont les rechutes) et nombre d'isolats transmis à l'un des sites d'analyse du CNR du paludisme en 2017 par hôpital correspondant.

Hôpitaux	Total cas déclarés	Total cas déclarés (Total échantillon transmis si Total cas declares < Total échantillon transmis)	Total échantillon transmis	%transmis	%transmis_dec
Amiens	23	23	23	100	100
Angers	23	23	22	95.7	95.7
Aulnay sous Bois	67	67	50	74.6	74.6
Beaujon	11	11	10	90.9	90.9
Besancon	13	16	16	123.1	100
Bicetre	85	85	78	91.8	91.8

Bobigny-Avicenne	65	65	61	93.8	93.8
Bondy-Jean Verdier	56	56	50	89.3	89.3
Boulogne	30	30	28	93.3	93.3
Brest	10	10	9	90	90
Cannes	5	5	0	0	0
Chambery	14	14	14	100	100
Clermont-Ferrand	20	20	20	100	100
Colombes-Louis Mourier	42	42	34	81	81
Creil	5	8	8	160	100
Creteil-Henri Mondor	45	58	58	128.9	100
Dijon	18	18	12	66.7	66.7
Grenoble	37	37	30	81.1	81.1
HIA Brest-Clermont-Tonnerre	6	6	6	100	100
La Rochelle	10	10	8	80	80
La Réunion	1	1	0	0	0
Lariboisière	74	74	73	98.6	98.6
Le Havre	16	16	16	100	100
Le Mans	24	24	22	91.7	91.7
Lille	27	27	18	66.7	66.7
Limoges	25	25	21	84	84
Meaux	14	14	0	0	0
Mulhouse	12	12	12	100	100
Nancy	13	13	10	76.9	76.9
Nantes	110	110	104	94.5	94.5
Niort	11	11	11	100	100
Paris-Bichat	190	190	175	92.1	92.1
Paris-Cochin	32	33	33	103.1	100
Paris-HEGP	33	33	32	97	97
Paris-HIA Begin	32	32	31	96.9	96.9
Paris-Necker	18	18	18	100	100
Paris-Pitie-Salpetriere	85	85	2	2.4	2.4
Paris-Robert Debre	61	61	54	88.5	88.5
Paris-Saint-Antoine	69	69	63	91.3	91.3
Paris-Tenon	14	14	14	100	100
Paris-Trousseau	28	28	16	57.1	57.1
Paris/St Joseph	49	49	47	95.9	95.9
Poitiers	32	32	31	96.9	96.9
Reims	42	43	43	102.4	100
Rennes	42	42	39	92.9	92.9
Saint-Denis	100	100	97	97	97
Strasbourg	47	47	37	78.7	78.7
Tourcoing	26	26	0	0	0
Tours	34	34	25	73.5	73.5
Troyes	1	2	2	200	100
Versailles	55	55	55	100	100

Roanne	1	1	1	100	100
Rochefort	8	8	7	87.5	87.5
Aix en Provence	9	9	9	100	100
Bordeaux	93	93	76	81.7	81.7
CNR [*]	2	2	1	50	50
Fréjus St Raphaël	1	1	1	100	100
Hospices Civils de Lyon	63	63	23	36.5	36.5
Marseille-HIA Laveran	25	25	25	100	100
Marseille-Nord	3	3	2	66.7	66.7
Marseille-Timone	38	38	22	57.9	57.9
Mayotte	16	16	16	100	100
Montpellier	46	46	40	87	87
Nice	29	29	29	100	100
Nimes	18	18	18	100	100
Toulon-Saint-Anne	9	9	9	100	100
Toulouse Purpan	1	1	1	100	100
Toulouse-Rangueil	125	125	112	89.6	89.6
Cayenne	1	1	0	0	0
Dracénie-Dranguignan	1	1	0	0	0
Arles	1	1	0	0	0
Blois	19	19	0	0	0
Bourges	2	2	0	0	0
Caen	7	7	0	0	0
Cahors	8	8	8	100	100
Clamart	10	10	0	0	0
Corbeil Essonne	73	73	0	0	0
Dole	1	1	0	0	0
Fontainebleau	6	6	0	0	0
La Roche sur Yon	5	5	0	0	0
Laval	5	5	0	0	0
Longjumeau	26	26	0	0	0
Marseille-DESP-Sud	12	12	0	0	0
Paris-Inst-Pasteur	14	14	0	0	0
Paris-Saint Louis	50	50	43	86	86
Rouen	40	40	38	95	95
Saint-Etienne	15	15	0	0	0
Saint-Nazaire	2	2	2	100	100
Valenciennes	8	8	8	100	100
Villeneuve St Georges	44	44	33	75	75
Total	2739	2761	2162		

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

3.1.2. Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la 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 80 % par une forêt tropicale associée à un réseau **hydrologique** très dense (**Figure 5**). 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 voir fluviale ou aérienne.



Figure 5. Réseau de partenaires guyanais.

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'orpillage étendue, agricole....).

Les zones d'endémie permanente du paludisme sont essentiellement localisées dans ces zones difficiles d'accès et très souvent victimes d'activités d'orpillage illégal. Quelques foyers de transmission à *P. vivax* sont situés le long du littoral où vivent 87% des 252 338 habitants de la Guyane (source Insee, 2017). 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 6).

Carte du risque de paludisme en Guyane – 2018 (évalué sur les données épidémiologiques 2017)

Document destiné aux professionnels de santé : pour toute question n'hésitez pas à vous rapprocher de votre médecin traitant ou d'un spécialiste en médecine des voyages.

Type de zone	Pas de transmission du paludisme au cours de l'année précédente	Risque faible Existence de cas mais pas de transmission dans les bourgs	Risque fort Transmission du paludisme dans la zone
Port de vêtements couvrants	Recommandé	Recommandé	Impératif
Utilisation de produits répulsifs	Recommandée	Recommandée	Impérative
Utilisation de moustiquaires non imprégnées	Recommandée	Sans objet	Sans objet
Utilisation de moustiquaires imprégnées	Recommandée	Impérative	Impérative
Traitement chimio-prophylactique (Touristes et séjours courts)	Sans objet	A voir au cas par cas	Impératif sauf si contre-indication médicale

Sources : Direction de la Démoustication et des Affaires Sanitaires de la Collectivité Territoriale de Guyane - ARS de Guyane – CNR Paludisme, Pôle Zones endémiques - Forces Armées de Guyane
Pôle des Centres Délocalisés de Prévention et de Soins du Centre Hospitalier Andrée Rosemon – Laboratoires de Biologie Médicale de ville et des Centres Hospitaliers – Cellule d'Intervention Régionale Guyane de Santé publique France
Validation : Comité d'experts des maladies à caractère épidémique, le 16 mars 2018
Réalisation : ARS Guyane en collaboration avec l'Institut Pasteur de la Guyane et la CIRE Guyane



Figure 6. Carte du risque de paludisme en Guyane, mars 2018.

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 Centres Délocalisés de Prévention et de Soins (CDPS) situés pour la plupart dans les zones d'endémie palustre. Ils sont rattachés à l'Hôpital de Cayenne. 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 ;
- deux hôpitaux publics situés à Cayenne et St Laurent du Maroni ;
- huit laboratoires de biologie médicale : cinq sur l'île de Cayenne, deux à Kourou et un à St Laurent du Maroni.

Toutes ces structures de soin et de diagnostic constituent le réseau de partenaires du Pôle Zones endémiques. Le Tableau 1 récapitule les moyens de transport disponibles pour l'acheminement des prélèvements entre le Pôle Zones endémiques et ses partenaires. Du fait de la répartition géographique des partenaires du Pôle Zones Endémiques en Guyane, deux méthodes de prélèvement étaient auparavant utilisés pour transmettre les isolats. Du fait de l'évolution des moyens de communication et de manière à faciliter et harmoniser la collecte, seuls des **prélèvements de sang veineux sur tube EDTA** seront maintenant collectés. Si leur acheminement à Cayenne est prévu plus d'une semaine après le prélèvement, il sera congelé en attendant son acheminement. Ce système sera mis en place courant 2018.

L'envoi des échantillons vers le Pôle Zones endémiques 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. Chaque année, les partenaires dits « actifs » du Pôle Zones endémiques sont ceux qui ont diagnostiqué l'année précédente plus de 10 cas dans l'année. Nous prêtons ainsi une attention toute particulièrement à la participation et si besoin la sensibilisation de ces centres.

En 2014, conjointement avec la CIRE Guyane et le Laboratoire Hospitalo-Universitaire de Parasitologie Mycologie (LHUPM) de l'Hôpital de Cayenne un système de recueil de données commun a été mis en place dans 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.

En 2017 compte tenu de la charge de travail dédiée à l'accréditation, seules les sensibilisations des nouveaux internes du CHAR ont été réalisées ainsi qu'une sensibilisation à St Laurent du Maroni. En effet, chaque semestre, les internes du LHUPM de l'Hôpital de Cayenne en charge de l'aiguillage des prélèvements jusqu'au Pôle Zones endémiques sont sensibilisés à l'intérêt de la surveillance des résistances et à leur rôle dans le processus de surveillance. L'animation du réseau de partenaire a cependant été maintenue via les réunions organisées par l'ARS Guyane dans le cadre du plan de lutte contre le paludisme. En plus de tout cela, des contacts téléphoniques réguliers ont lieu avec les partenaires sur différents dossiers patients dès que nécessaire.

Cette stratégie de sensibilisation a permis d'augmenter le nombre d'échantillons reçus au Pôle Zones endémiques en provenance de Guyane de façon constante depuis 2008. En 2017, malgré une forte transmission de la maladie (597 cas déclarés à la CIRE Guyane, +129%), le recrutement du CNR paludisme a encore augmenté son niveau d'exhaustivité pour atteindre 74,7% contre 66,9% en 2016 (

Figure 7). Il a ainsi reçu 446 isolats sur les 597 cas déclarés toutes espèces plasmodiales confondues. Il détail du niveau de participation par centre est présenté dans le Tableau 3.

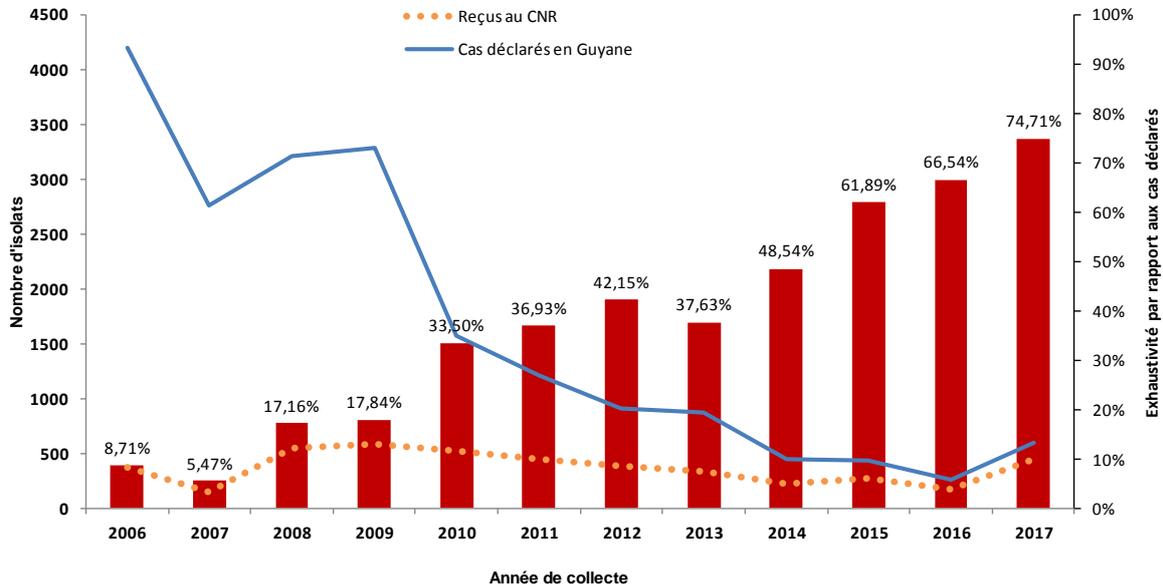


Figure 7 : Recrutement et exhaustivité atteints entre 2006 et 2017 par le Pôle Zones endémiques.

Courbe pleine : nombre de cas déclarés à la Cire Guyane, pointillée : nombre d'isolats reçus. Histogrammes : proportion d'isolats collectés en fonction du nombre de cas déclarés à la Cire Guyane,

A Mayotte

Pour cette mandature, le Pôle Zones endémiques devait s'attacher à tisser des liens étroits avec les autorités sanitaires locales de façon à proposer son soutien et son expertise technique si la situation épidémiologie le nécessitait (Figure 8). Pour l'instant, les activités en lien avec l'île de Mayotte ont été assurées par le Pôle Zones non endémiques en raison des liens historiques liés lors de la précédente mandature.



Figure 8. Carte de l'île de Mayotte.

Tableau 3. Partenaires du Pôle Zones endémiques (PZE) en Guyane: localisation, fréquence des liaisons avec Cayenne et niveau de participation à la surveillance biologique du paludisme en 2017.

	Partenaires	Commune	Liaison (fréquences)	Type d'échantillons collectés	Nombre d'accès déclarés (Cire)	Isolats transmis au PZE	
						Nb	%
Maroni	CH	St Laurent du Maroni	Routière (quotidienne)	Tube EDTA	41	11	27%
	LBM Ouest Biosanté		Routière (sur demande)	Tube EDTA	0	0	-
	Poste de santé	Iracoubo	Route	Tube EDTA	1	0	0%
	Centre de santé	Apatou	Pirogue + route (hebdomadaire)	Tube EDTA	0	0	-
	Centre de santé	Gran-Santi	Aérienne (4x/semaine)	Tube EDTA	2	0	0%
	Centre de santé	Papaïchton	Pirogue + avion (quotidienne)	Tube EDTA	1	1	100%
	Centre de santé	Maripa Soula	Aérienne (quotidienne)	Tube EDTA	58	34	59%
	Poste de santé	Antécume Pata	Pirogue + avion (occasionnelle)	Buvard	2	0	0%
	Poste de santé	Talhuen	Pirogue + avion (occasionnelle)	A mettre en place	1	0	0%
Littoral	CH	Cayenne	Routière (quotidienne)	Tube EDTA	81	78	96%
	LBM IPG		Sur place	Tube EDTA	4	2	50%
	LBM LabAzur	Cayenne Matoury	Routière (sur demande)	Tube EDTA	14	0	0%
	LBM Biosoleil	Littoral	Routière (sur demande)	Tube EDTA	1	1	100%
	LBM de Kourou	Kourou	Routière (sur demande)	Tube EDTA	57	67	118%*
	Service de santé des Armées	Cayenne	Routière (sur demande)	Tube EDTA Buvard	21	19	90%
	Intérieur	Centre de santé	Régina	Routière (hebdomadaire)	Tube EDTA	36	24
Centre de santé		Cacao	Routière (hebdomadaire)	Tube EDTA	0	0	-
Poste de santé		Saül	Aérienne (quotidienne)	Tube EDTA	3	2	67%
Oyapock	Centres de santé	St Georges de l'Oyapock Ouanary	Routière (bi- hebdomadaire)	Tube EDTA Buvard	262	203	77%
	Centre de santé	Camopi	Pirogue + avion (occasionnelle)	Tube EDTA Buvard	10	4	40%
	Poste de santé	Trois Sauts	Pirogue + avion (occasionnelle)	Buvard	2	0	0%
Total					597	446	75%

CH : Centre Hospitalier, LBM : Laboratoire de Biologie Médicale, PZE : Centre National de Référence du Paludisme, Pôle Zones endémiques, IPG : Institut Pasteur de la Guyane, Cire : Cellule InterRégionale d'Epidémiologie de Guyane. *Certains pourcentages sont supérieurs à 100%. Ceux-ci concernent 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 PZE. Les autres cas concernent les militaires qui sont rarement étiquetés comme service de santé des armées par le PZE mais plutôt systématiquement par le laboratoire qui envoie les prélèvements, le plus souvent le LBM de Kourou et le LBM de l'IPG.

3.2. Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

3.2.1. Pôle Zones non Endémiques

En 2017, **2 720** cas de paludisme importés en France métropolitaine dont **2 cas autochtones** déclarés par les correspondants du réseau, ont été retenus après élimination des doublons et nettoyage de la base. Trois cas déclarés comme autochtones à l'ARS de référence sont après enquête classés comme 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 2721 cas importés en France métropolitaine en 2017 sont déclarés par **83** centres hospitaliers civils (n=2669), **2** centres hospitaliers militaires (n=38) par le Centre d'épidémiologie et de santé publique des Armées (CESPA) (n=12) et par des hôpitaux hors réseau ajoutés par le CNR (n=2). La région Ile de France demeure au 1^{er} rang des déclarations avec **54,4%** des cas déclarés.

3.2.1.1. Estimation du nombre de cas totaux et tendances évolutives

En 2017, nous observons une augmentation du nombre de cas déclarés par rapport à 2016 (+11,1%) ce qui se traduit par une augmentation de 10,3% du nombre de cas estimés Tableau 4 et

Figure 9. La proportion des cas capturés par le réseau en 2017 est de 52 %, en légère augmentation par rapport à 2016 (51,6 %). À déclarants constants, le nombre de cas a augmenté de 7,6 % par rapport à 2016.

Tableau 4 : Cas déclarés et cas estimés de paludisme en France métropolitaine, tendances évolutives 2013 -2017

	2013	2014	2015	2016	2017
Nb de cas déclarés (NCD)	2171	2299	2504	2450	2721
NCD, variation / année antérieure en %	17.0	5.9	8.9	-2.2	11.1
NCD hors CESPAC	2129	2246	2438	2436	2709
NCD hors CESPAC, variation / année antérieure en %	16.1	5.5	8.5	-0.1	11.2
NCD hors CESPAC, Représentativité du réseau	51.1	51.4	51.4	51.6	52
NCD hors CESPAC à correspondants constants	2025	2197	2403	2362	2541
NCD hors CESPAC à correspondants constants variation / année antérieure	14.3	8.5	9.4	-1.7	7.6
Nombre total de cas estimés	4208	4423	4809	4735	5222
Nombre total de cas estimés variation / année antérieure	17.5	5.1	8.7	-1.5	10.3
Cas observés corrigés (enquête exhaustive de 2014 sur les données 2013)	4208				
Cas observés corrigés variation / total cas estimés en %	1.9				

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

*Chiffres obtenus à partir de l'enquête ANSM/CNR du Paludisme de 2018 pour l'année 2017

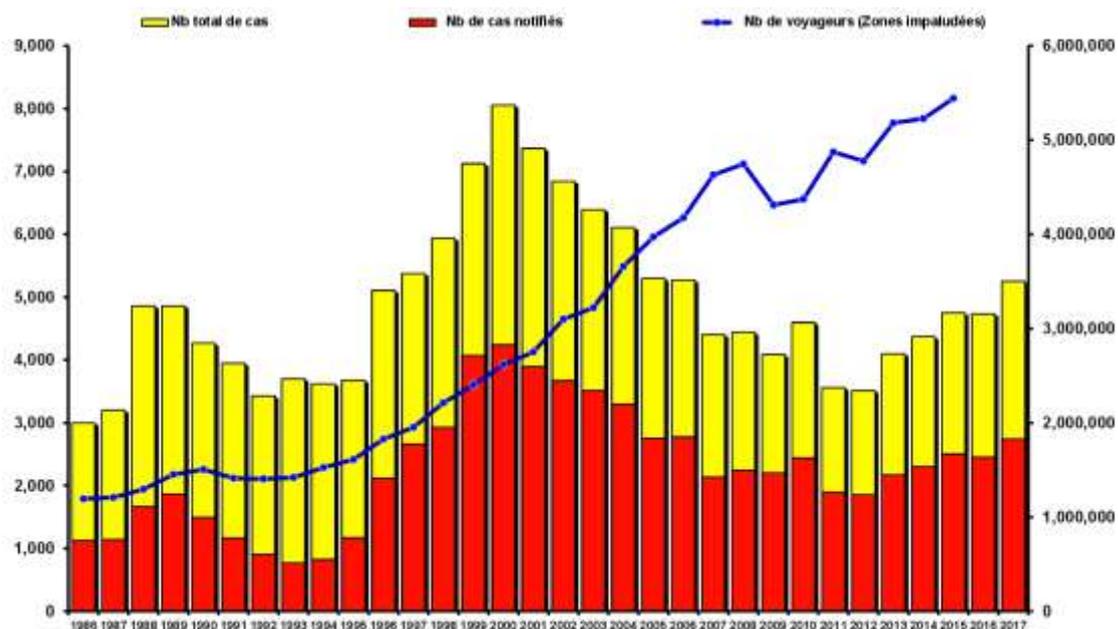


Figure 9 : Evolution du paludisme d'importation, cas déclarés, cas estimés et nombre de voyageurs vers les zones impaludées, France métropolitaine 1996 à 2017.

Cette augmentation du nombre de cas ne s'accompagne pas d'une augmentation de la mortalité qui reste faible (Figure 10).

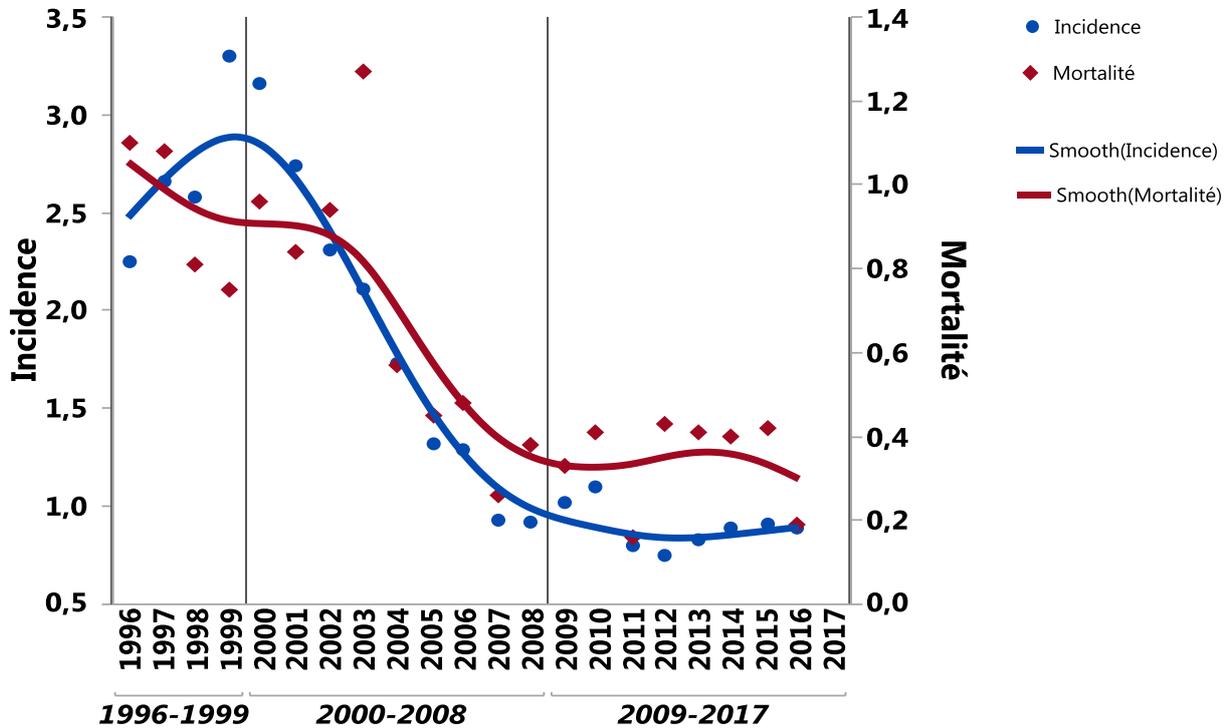


Figure 10 : Evolution de taux d'incidence (pour 1000 voyageurs) et de mortalité (pour 100000 voyageurs) du paludisme d'importation en France métropolitaine 1996 à 2017.

Pour l'année 2017, 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 (54,4 % des cas totaux) (**Figure 11**).

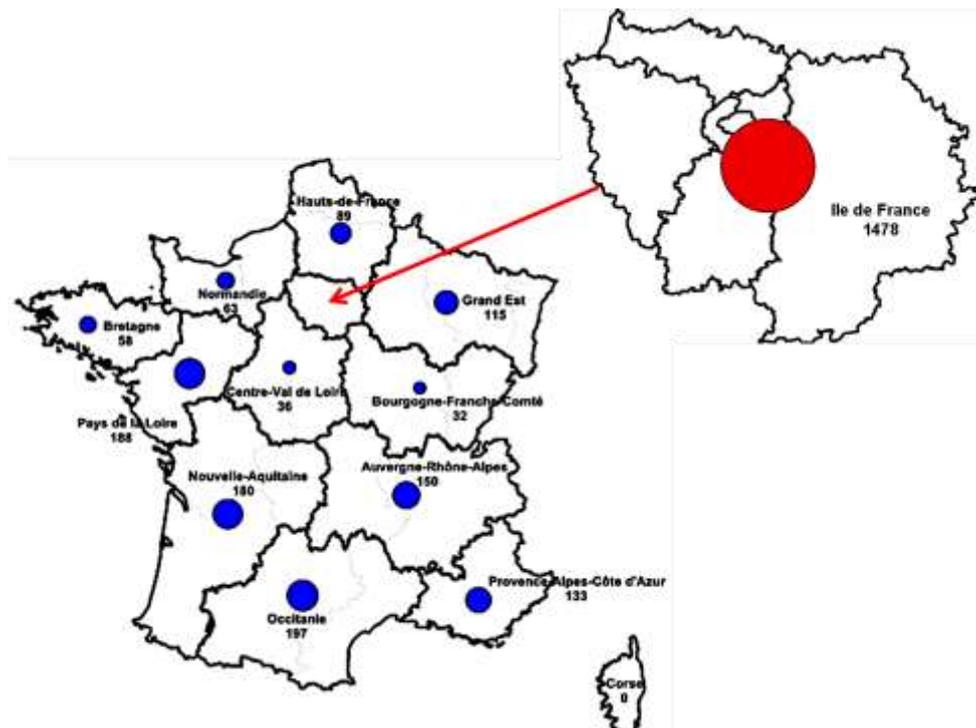


Figure 11 : Répartition régionale des cas de paludisme déclarés par le réseau des correspondants du CNR du Paludisme, France métropolitaine, année 2017, n = 2716.

Distribution mensuelle des cas

La répartition des cas en fonction du mois de diagnostic est illustrée par la **Figure 12** : on note comme à l'habitude pour *P. falciparum* un pic de fréquence des cas entre juillet et octobre et un deuxième plus modéré en janvier. Pour les autres espèces les cas sont moins nombreux et leur répartition plus fluctuante.

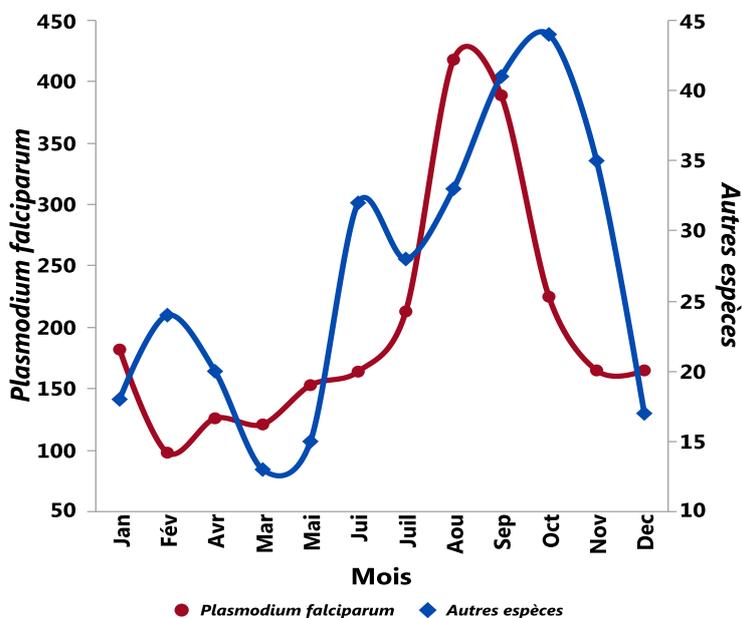


Figure 12 : Distribution mensuelle des cas de paludisme déclarés par le réseau des correspondants du CNR du paludisme, France métropolitaine, année 2017, n = 2720.

Age, sexe et origine des cas déclarés

L'âge et le sexe sont renseignés dans presque 100% des cas. Les cas ont entre 0 mois et 91 ans. L'âge médian est de 38 ans (IQ25-75 =25-50) ; moyenne : 37,4 (ET : 17,4). La proportion des nourrissons dans la population totale est de 1,8 % (49/2719) avec un âge médian de 1 année (IQ25-75 =1-2). La proportion d'enfants (3-14 ans) est de 9,7 % (263/2719) avec un âge médian de 9 ans (IQ25-75 =6-12), celle des adultes de 15-59 ans de 78 % (2116/2719) avec un âge médian de 38 ans (IQ25-75 =29-47) et celle des adultes ≥60 ans de 11 % (291/2719) avec un âge médian de 65 ans (IQ25-75 =62-69). Les changements sont non significatifs par rapport à 2016. La répartition des hommes et des femmes en fonction des tranches d'âge dans la

Figure 13.

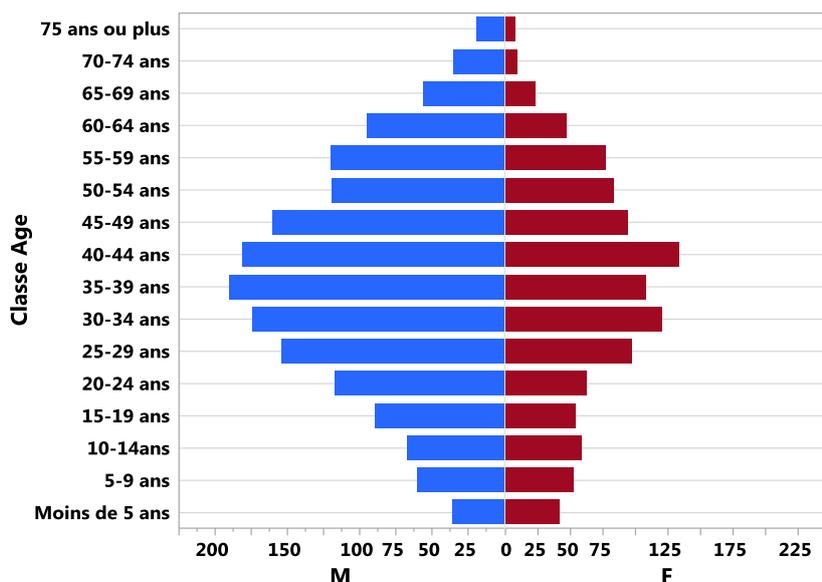


Figure 13 : Répartition par âge et par sexe des cas de paludisme déclarés par le réseau des correspondants du CNR du paludisme, France métropolitaine, année 2017, n = 2718.

Le sex-ratio_{H/F} global de l'ensemble de la population d'étude en 2017 est de 1,6 contre 1,8 en 2016, cette différence n'est pas significative. En fonction des tranches d'âge, on observe une augmentation significative du sex-ratio avec l'âge ($p < 0,001$).

Tableau 5 : Répartition des hommes et des femmes en fonction des tranches d'âge pour la population totale, France métropolitaine, année 2017, n = 2717.

Classe Age	Femmes		Hommes		Sex-ratio Hommes/Femmes	Tendance
	N	%	N	%		
0-2 ans	27	2,5%	21	1,3%	0.8	↓
3-14 ans	124	11,7%	139	8,4%	1.1	
15-59 ans	824	77,7%	1292	78,0%	1.6	
>=60 ans	86	8,1%	204	12,3%	2.4	
Total	1061	100,0%	1656	100,0%	1.6	

L'ethnie, qui constitue un meilleur reflet du risque d'exposition que la nationalité, est renseignée pour 2222 cas (82%). La répartition des hommes et des femmes en fonction de l'origine ethnique est détaillée dans le Tableau 6.

Dans la population totale, on observe une proportion de 82,8 % de sujets d'origine africaine (en augmentation 4,0% par rapport à 2016) pour environ 15,3% de caucasiens. Ces chiffres confirment et renforcent encore une fois la tendance constatée depuis 1996.

La distribution du sex-ratio_{H/F} en fonction de l'ethnie (Tableau 6) indique un chiffre élevé de 3,1 pour les caucasiens versus 1,4 pour les africains. Le type de séjour, plus long (médiane) et plus familial (plus d'enfant de moins de 15 ans en proportion) des sujets africains explique le sex-ratio plus proche de 1 pour la population Africaine. Le type de voyage, plus souvent professionnel et l'influence du groupe des militaires expliquent pour leurs parts le sexe ratio Hommes/Femmes presque 2 fois plus élevé dans cette population. Le sexe ratio des groupes Asiatiques et Autres peuvent varier fortement d'une année sur l'autre, en raison essentiellement de la plus grande disparité au sein des groupes et du faible effectif annuel.

Tableau 6 : Répartition des hommes et des femmes en fonction de l'origine ethnique caucasienne et Africaine en 2017 (n= 2178).

Ethnie	Sexe				Sex-ratio
	F		M		Hommes/ Femmes
	N	%	N	%	
Africain	773	90.3%	1068	80.8%	1.4
Caucasien	83	9.7%	254	19.2%	3.1
Total	856	100.0%	1322	100.0%	1.5

L'évolution du nombre de cas chez les sujets d'origine africaine et chez les caucasiens montre une évolution similaire à la baisse depuis 2000, mais alors que cette évolution se poursuit, bien qu'avec une pente plus faible, chez les caucasiens, on assiste depuis 2012 à une augmentation des cas pour la population d'origine africaine (Figure 12). Le nombre de voyageurs vers les zones d'endémie continue de croître avec les années. Ceci se traduit par l'augmentation de la proportion des sujets d'origine africaine dans la population des cas de paludisme importés en France métropolitaine (Figure 14).

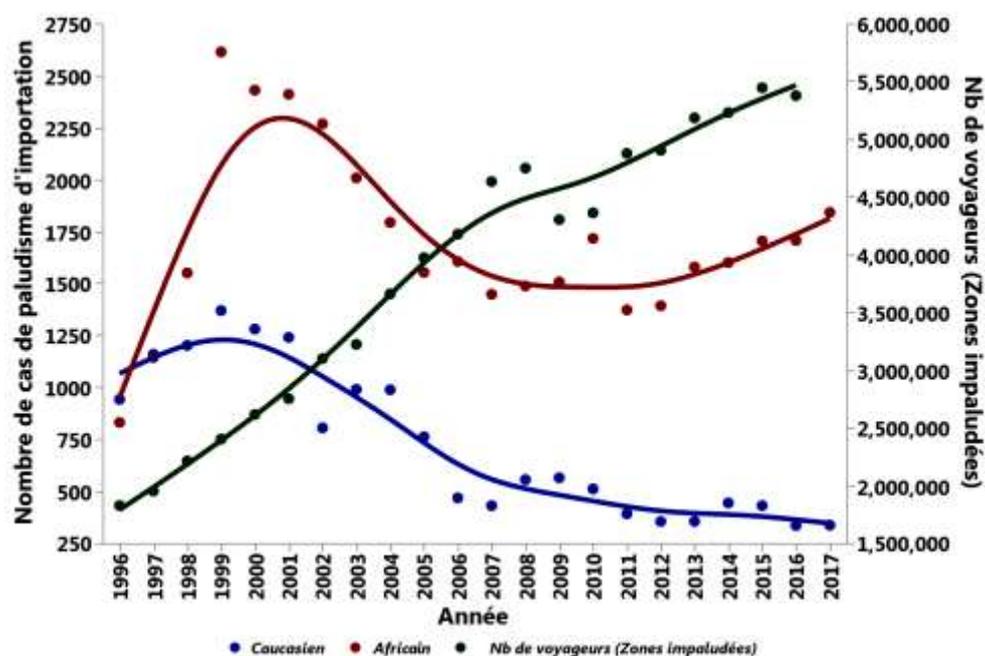


Figure 14 : Evolution annuelle des cas de paludisme d'importation des sujets d'origine africaine (points rouges) et caucasienne (points bleus) entre 1996 et 2017 en regard du nombre de voyageurs en zone d'endémie (points gris). Les courbes de la même teinte désignent les différentes prédictions réalisées pour les populations concernées.

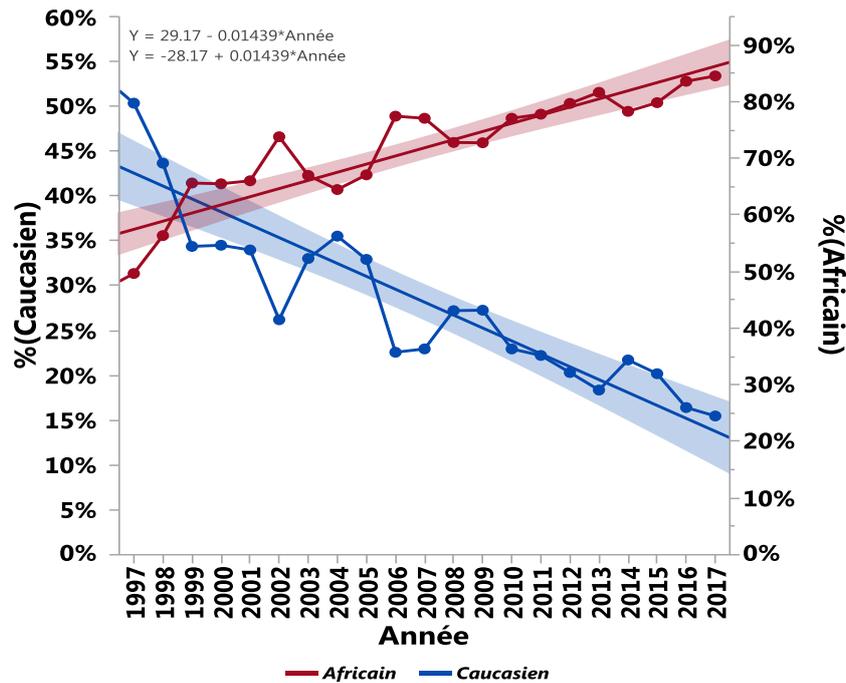


Figure 15 : Evolution annuelle des proportions de paludisme d'importation des sujets d'origine africaine et caucasienne entre 1996 et 2017. Les points rouges désignent la proportion des africains, tandis que les points bleus celles des caucasiens. Une droite de régression est ajustée pour chaque groupe et les équations correspondantes sont données dans la figure.

Lieu présumé de contamination

Les régions présumées de contamination sont rapportées dans le

Tableau 7 et le Tableau 8. Pour les cas acquis sur le continent africain, qui regroupent les principaux pays de contamination, on note une tendance à la baisse des cas en provenance du Mali (n=142, -26,4 %), de la RCA (n=120, -7,7 %), du Congo (n=98, -50,5 %), du Gabon (n=70, -14,6 %), du Burkina Faso (n=59, -15,7 %), du Tchad (n=33, -37,7 %) et de la RDC (n=27, -50,9 %) par rapport à 2016. Les cas en provenance de Côte d'Ivoire, de la Guinée, du Sénégal, du Togo, du Bénin, du Nigéria, du Niger, du Ghana, et de Madagascar sont en augmentation de plus de 15 % par rapport à 2016.

Globalement, les cas de paludisme d'importation chez les militaires (n=42) sont stables par rapport à 2016 (n=38). Les principaux pays ou régions à l'origine des cas pour les militaires sont comme à l'habitude, la Côte d'Ivoire (n=20), la République Centrafricaine (n=7), la Guyane Française (n=3) et plus récemment le Mali (3 cas en 2017). On note cette année une proportion plus importante des cas contractés en Côte d'Ivoire n=20 (48 %) contre seulement 5 en 2016 (13 %).

Il y a eu, en 2017, treize cas de paludisme d'importation au retour des Comores contre six cas rapportés en 2016 (2, 1 et 53 respectivement en 2015, 2014 et 2013). Un programme national de traitement de masse de la population, le contrôle de la transmission par une distribution de moustiquaires imprégnées d'insecticide, la diminution des précipitations et les traitements des cas plus efficaces grâce aux dérivés de l'artémisinine sont les pistes évoquées pour expliquer ce phénomène remarquable survenu dans les îles de l'archipel des Comores. Les chiffres de l'année 2017 sont moins bons que ceux des trois années précédentes. Un rebond de l'épidémie palustre dans les îles de l'archipel est à craindre, d'autant plus que des foyers restent actifs également à Mayotte.

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.

Tableau 7 : Répartition des cas en fonction du profil épidémiologique et de la région d'endémie visitée en 2017, France métropolitaine, n = 1865.

Region_endemie	Civils voyageurs		Civils résidents		Militaires		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Latin Amer. & Carib	7	0.5%	0	0.0%	3	7.7%	10	0.5%
Sub-Saharan Africa	1381	97.9%	407	97.8%	36	92.3%	1824	97.8%
Afrique SAI	0	0.0%	1	0.2%	0	0.0%	1	0.1%
Asia (Ex. Near East)	18	1.3%	8	1.9%	0	0.0%	26	1.4%
Near East	1	0.1%	0	0.0%	0	0.0%	1	0.1%
Oceania	2	0.1%	0	0.0%	0	0.0%	2	0.1%
Western Europe	1	0.1%	0	0.0%	0	0.0%	1	0.1%
Total	1410	100.0%	416	100.0%	39	100.0%	1865	100.0%

Dans le Tableau 8, les 15 pays sur les 59 pays à l'origine des cas, représentant 92,4 % du total des cas déclarés sont présentés. Dix pays sont à l'origine de plus de 50 cas déclarés dans l'année. Ils comptabilisent 1559 cas soit 83,5 % du total des cas déclarés

Tableau 8 : Répartition des cas en fonction du profil épidémiologique pour les 10 pays de contamination les plus fréquemment cités en 2017, n=1789

Pays endémie	Civils voyageurs		Civils résidents		Militaires		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Cote d'Ivoire	412	29.2%	122	29.3%	19	48.7%	553	29.7%
Cameroun	315	22.3%	67	16.1%	0	0.0%	382	20.5%
Guinee	109	7.7%	24	5.8%	0	0.0%	133	7.1%
Mali	80	5.7%	19	4.6%	2	5.1%	101	5.4%
Centrafrique	57	4.0%	17	4.1%	7	17.9%	81	4.3%
Congo	47	3.3%	19	4.6%	0	0.0%	66	3.5%
Senegal	60	4.3%	10	2.4%	1	2.6%	71	3.8%
Togo	42	3.0%	16	3.8%	0	0.0%	58	3.1%
Benin	46	3.3%	14	3.4%	0	0.0%	60	3.2%
Gabon	32	2.3%	22	5.3%	0	0.0%	54	2.9%
Nigeria	42	3.0%	13	3.1%	0	0.0%	55	2.9%
Burkina Faso	27	1.9%	13	3.1%	5	12.8%	45	2.4%
Tchad	15	1.1%	11	2.6%	1	2.6%	27	1.4%
Congo RDC-Zaire	17	1.2%	4	1.0%	0	0.0%	21	1.1%
Niger	13	0.9%	7	1.7%	1	2.6%	21	1.1%
Sous Total	1314	93.2%	378	90.9%	36	92.3%	1728	92.4%
Total	1410	100.0%	416	100.0%	39	100.0%	1865	100.0%

Méthodes diagnostiques du paludisme et espèces plasmodiales identifiées

La méthode diagnostique est connue pour 2718 cas et présentée dans la **Figure 16** et le **Tableau 9**. Le frottis sanguin mince et la goutte épaisse sont associés systématiquement dans 64,8% des cas (+5,9 % par rapport à 2016). La détection antigénique sur bandelettes lorsqu'elle est réalisée, est associée à une méthode microscopique dans la presque totalité des cas (81,2 %).

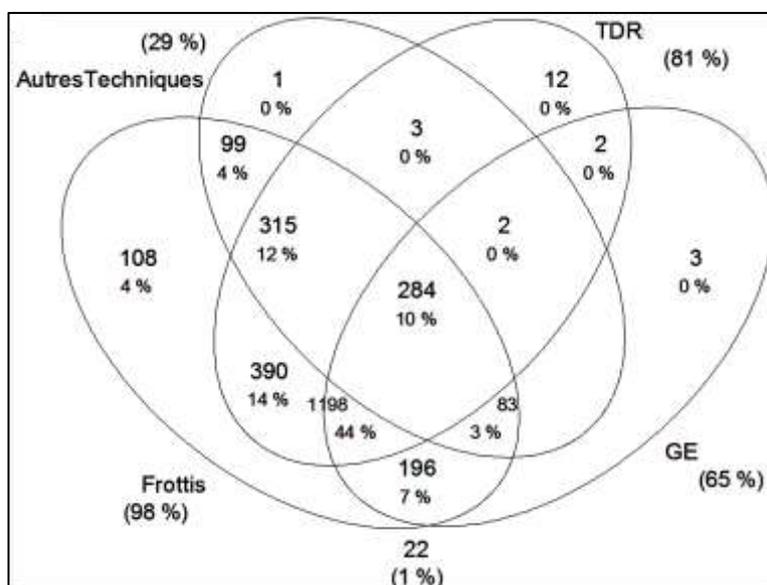


Figure 16 : méthodes de diagnostic des accès palustres en 2017

Tableau 9 : méthodes de diagnostic déclarées (n=2718)

Méthodes diagnostiques	N	%
Frottis & GE & TDR	1198	44.1%
Frottis & TDR	390	14.3%
Frottis & TDR & AT	315	11.6%
Frottis & GE & TDR & AT	284	10.4%
Frottis & GE	196	7.2%
Frottis	108	4.0%
Frottis & AT	99	3.6%
Frottis & GE & AT	83	3.1%
Aucun	22	0.8%
TDR	12	0.4%
GE	3	0.1%
TDR & AT	3	0.1%
GE & TDR	2	0.1%
GE & TDR & AT	2	0.1%
AT	1	0.0%
Total	2718	100.0%

AT = autre technique.

L'espèce plasmodiale est rapportée pour les 2718 cas déclarés de paludisme importé en France métropolitaine en 2017 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 2162 échantillons/2761 échantillons (78,3 %). 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* seule représente la majorité des infections, elle est identifiée dans 2377 cas (87,5

%), soit une légère augmentation de 1% par rapport à 2016 (86,5 %). Si l'on considère les infections mixtes avec *P. falciparum*, cette espèce est retrouvée dans 2148 cas (87,8 %). *Plasmodium ovale*, *P. vivax*, *P. malariae*, et les infections mixtes sont retrouvés dans 174 (6,4 %), 56 (2,1 %), 55 (2,0 %) et 26 (1,0 %) des cas respectivement (**Figure 17**). Les infections à *Plasmodium falciparum* sont majoritairement contractées sur le continent Africain 99,7%. Globalement cette espèce est responsable de 89,4% des accès en provenance d'Afrique. Elle est également responsable de 5,3 % des infections acquises en Asie, en diminution constante ces dernières années. Les infections à *P. ovale* restent stables par rapport à 2016, en nombre et en proportion.

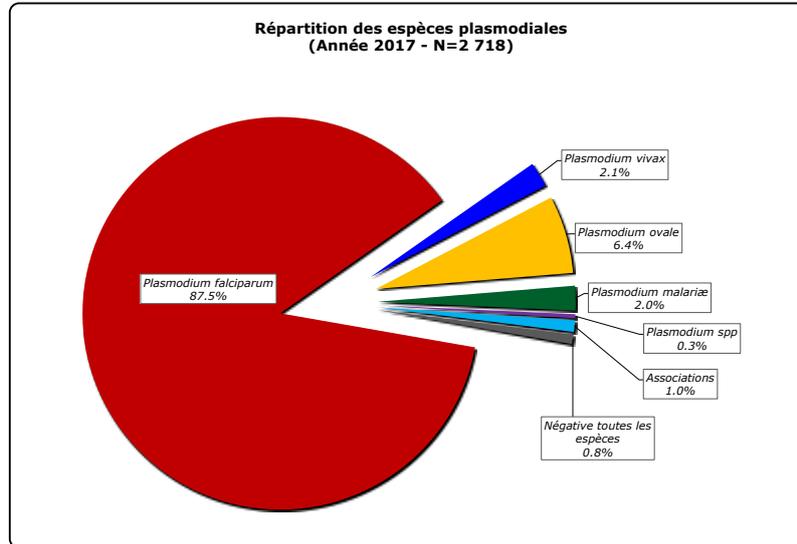


Figure 17 : Distribution cas de Paludisme d'importation par espèces, France métropolitaine, 2017, n = 2718

Les espèces plasmodiales diagnostiquées par les correspondants en fonction de la région d'endémie visitée sont rapportées dans le **Tableau 10**. On observe sans surprise une prédominance de *P. falciparum* en Afrique alors que *P. vivax* prédomine en Amérique Latine. Neuf accès imputés à *P. vivax* ont un pays d'Afrique sub-Saharienne pour origine incriminée de contamination, dans 3 cas la Mauritanie, dans 2 cas le Mali, et dans 1 cas chacun le Soudan, la Côte d'Ivoire, le Togo et le Congo. La PCR a été mise en œuvre dans 6 cas et elle a confirmé le diagnostic à chaque fois pour les voyages déclarés en Mauritanie, au Soudan et au Mali. Le diagnostic n'a pas pu être confirmé (échantillons et lames non adressées) pour les cas de Côte d'Ivoire, du Togo ou du Congo. La Mauritanie et le Soudan ainsi que le nord du Mali sont des zones de transmission de *P. vivax*. Les profils épidémiologiques des cas en provenance du Togo, de la Côte d'Ivoire ou du Congo sont plus énigmatiques. Un test antigénique réalisé chez le patient en provenance du Congo est positif pour l'antigène de *P. vivax*. Cependant, le patient a pu voyager ailleurs qu'au Togo, il s'agit d'un Caucasiens dont le type de séjour n'est pas précisé.

Tableau 10 : Répartition des espèces en effectifs et en pourcentages dans les différentes régions et sous continents en 2017 pour la population totale.

Région endémique	Espèces plasmodiales															
	Pf		Pv		Pm		Po		Psp		Mixed		Négative		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Latin Amer. & Carib	2	18.2%	7	63.6%	0	0.0%	0	0.0%	2	18.2%	0	0.0%	0	0.0%	11	100.0%
Sub-Saharan Africa	2287	89.4%	9	0.4%	50	2.0%	165	6.5%	3	0.1%	24	0.9%	20	0.8%	2558	100.0%
Afrique SAI	1	50.0%	1	50.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	2	100.0%
Asia (Ex. Near East)	2	5.3%	34	89.5%	0	0.0%	0	0%	1	2.6%	0	0.0%	0	0.0%	38	100.0%
Near East	1	100.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	1	100.0%
Oceania	1	33.3%	2	66.7%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	3	100.0%
Western Europe	0	0.0%	1	50.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	1	50.0%	0	0.0%	2	100.0%
Total	2294	87.7%	54	2.1%	50	1.9%	166	6.3%	6	0.2%	25	1.0%	20	0.8%	2615	100.0%

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

Présentation clinique à l'entrée et espèces plasmodiales

Les accès déclarés étaient des accès simples avec ou sans vomissements dans 84,6 % des cas, toutes espèces confondues (Tableau 11). Les accès graves sont presque exclusivement observés avec l'espèce *P. falciparum*, seul ou en association 97,9 % (369/377). Dans 8 cas l'espèce identifiée n'est pas *P. falciparum* ou une infection mixte avec *P. falciparum*. Il s'agit de *P. ovale* dans 5 cas, *P. vivax* dans 2 cas et *P. malariae* dans 1 cas. Un cas de *P. ovale* correspond à un militaire de 31 ans hospitalisé pour une détresse respiratoire avec de la fièvre à 40°C, deux mois après le retour d'un séjour en République Centrafricaine. La goutte épaisse retrouve des gamétocytes seuls. Le diagnostic d'espèce est confirmé par PCR. Ce patient est plongeur de combat. Les troubles rapportés ne sont probablement pas en rapport avec une infection palustre. La détresse respiratoire est plus probablement en lien avec son activité ou une infection bactérienne ou virale concomitante non précisée. Un autre cas correspond à une infection active (présence de trophozoïtes et de schizontes) à *P. ovale* chez un sujet africain résident au Nigéria. Il présente une parasitémie supérieure à 4%, associée à des troubles de la conscience minimes après une perte de connaissance initiale. Dans 3 cas (1 *P. vivax* et 2 *P. ovale*) on retrouve une hyperbilirubinémie >50, associé à un état de choc pour un jeune patient de 25 ans réfugié Pakistanais. Un état de choc isolé est rapporté dans deux autres cas, 1 *P. vivax* et 1 *P. ovale*. Le cas rapporté avec *P. malariae* correspond à un syndrome hémorragique

Tableau 11. Types des accès cliniques en effectifs et en pourcentages en fonction des espèces plasmodiales pour la population totale en 2017, n = 2 601.

	Espèces plasmodiales													
	Pf		Pv		Pm		Po		Pssp		Mixte		Total	
Type de l'accès clinique	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Accès grave (joindre CR hospitalisation SVP)	359	15,8%	2	3,8%	1	2,2%	5	3,1%	0	0,0%	10	24,4%	377	14,5%
Accès simple AVEC vomissements	493	21,7%	15	28,8%	8	17,8%	18	11,1%	3	12,5%	4	9,8%	541	20,8%
Accès simple sans vomissements	1409	61,9%	35	67,3%	34	75,6%	139	85,8%	20	83,3%	24	58,5%	1661	63,9%
Formes Asymptomatiques et découvertes fortuites	14	0,6%	0	0,0%	2	4,4%	0	0,0%	1	4,2%	3	7,3%	20	0,8%
Paludisme Viscéral évolutif (PVE)	2	0,1%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	2	0,1%
Total	2277	100,0%	52	100,0%	45	100,0%	162	100,0%	24	100,0%	41	100,0%	2601	100,0%

*Paludisme viscéral évolutif ; vom : vomissements

Délai d'apparition des symptômes, délai de diagnostic, densité parasitaire

Le **délai d'apparition des symptômes** 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 12. La valeur médiane toutes espèces confondues est de 5 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, 42 et 64 jours respectivement. L'espèce *P. malariae* est intermédiaire entre ces deux valeurs, 26 jours.

Tableau 12. 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 2017, n = 2 144.

Espèces plasmodiales	Délai d'apparition des premiers symptômes			
	N	Median	P25	P75
Pf	1903	5	0	10
Pv	40	64,5	16	248
Pm	27	26	6	66
Po	123	42	7	164
P spp	13	12	0,5	30
Mixte	38	5	0	11,25
Total	2144	5	1	11

Le **délai de diagnostic** est calculé comme la date du diagnostic moins la date d'apparition des symptômes. Le délai diagnostic est détaillé dans le Tableau 13 en fonction des espèces plasmodiales identifiées.

Tableau 13. Délai diagnostic (en jours) en fonction de l'espèce plasmodiale pour l'année 2017, n = 2272.

Espèces plasmodiales	Délai symptôme/diagnostic (Jours)					
	N	Mean	Std Dev	Median	P25	P75
Pf	1997	5,7	40,1	3	2	6
Pv	46	6,6	10,6	3,5	2	6,25
Pm	31	13,3	18,5	8	3	14
Po	142	6,6	8,8	4	3	7
P spp	18	5,2	4,8	4	1	8,25
Mixte	38	6,2	7,7	3,5	1	8
Total	2272	5,9	37,7	3	2	6

La valeur médiane du délai diagnostic est de 3 jours ($IQ_{25-75} = 2-6$). Il est là encore fortement influencé par celui de l'espèce *P. falciparum*. Si l'on compare les espèces, le délai médian est très proche pour les espèces *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. ovale* ou les infections mixtes, 3 à 5 jours mais différent de celui observé pour *P. malariae* (8 jours). On met en évidence une différence statistiquement significative entre ces différentes espèces et *P. malariae*. 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.

On notera que pour l'espèce *P. falciparum*, plus de 90 % des cas surviennent dans la semaine qui suit le retour (Figure 18)

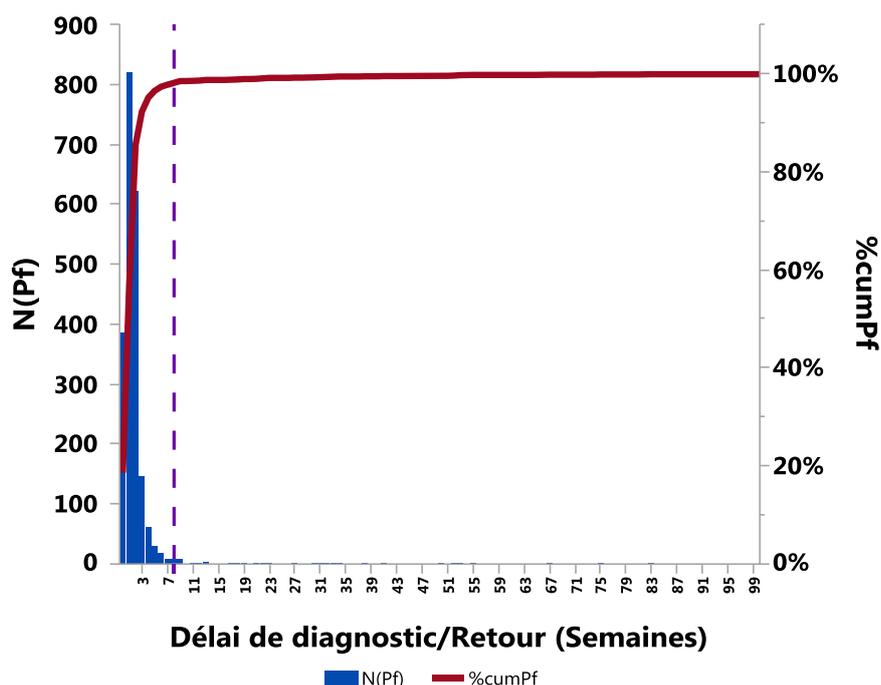


Figure 18 : Délai entre la date de retour et le diagnostic de l'accès palustre pour l'espèce Plasmodium falciparum

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 14.

La parasitémie à *P. falciparum* (seul ou en association) est connue pour 2316 cas. Sa valeur médiane est fonction du type d'accès : 0,3% pour les accès simples sans vomissement versus 5% pour les accès graves. Ces valeurs sont stables entre 2016 et 2017. La différence pour l'âge ≥ 15 ans médiane 0,4% [IQ₂₅₋₇₅ 0,1 %-1,6 %] ou < 15 ans médiane 1 % [IQ₂₅₋₇₅ 0,2 %-3,6 %] est significative, les sujets plus jeunes ont des parasitémies plus élevées (test de Wilcoxon $p < 0,001$). La parasitémie n'est pas statistiquement significative en fonction de l'origine ethnique des patients (test de Kruskal-Wallis $p = 0,1$).

Tableau 14. 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 2017.

Type de l'accès clinique	Frottis mince (%)					
	N	Mean	Std Dev	Median	P25	P75
Accès grave (joindre CR hospitalisation SVP)	357	7,3	8,4	5,0	1,4	9,0
Accès simple AVEC vomissements	499	1,2	1,8	0,6	0,2	1,5
Accès simple sans vomissements	1444	0,9	1,5	0,3	0,1	1,0
Formes Asymptomatiques et découvertes fortuites	14	0,1	0,3	0,0	0,0	0,2
Paludisme Viscéral évolutif (PVE)	2	2,2	1,2	2,2	1,4	3,0
Total	2316	1,9	4,3	0,5	0,1	1,8

(test de Kruskal-Wallis $p < 0,001$).

3.2.1.2. Attitude prophylactique

Protection personnelle anti-moustiques (PPAM)

L'utilisation d'une protection personnelle anti vectorielle est renseignée dans 60 % des cas. Plus de 88% des sujets n'utilisent aucune protection anti-vectorielle (Figure 19).

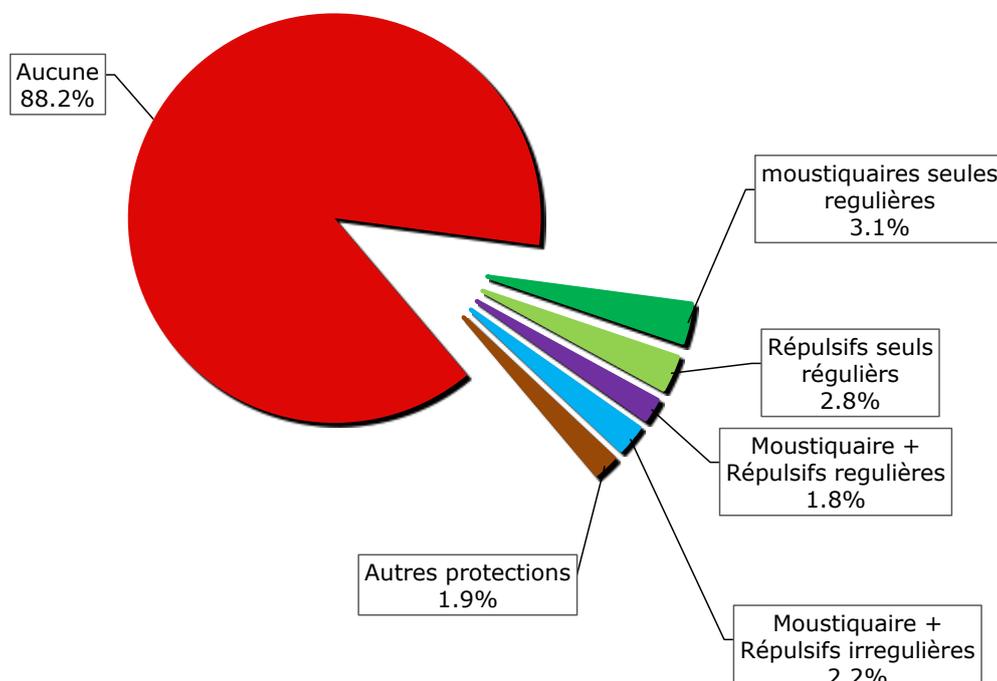


Figure 19 : Protection personnelle anti-moustiques (PPAM) en 2017, n = 1 512.

Chimioprophylaxie alléguée

L'utilisation d'une prophylaxie médicamenteuse est renseignée dans 2348 cas (86,3 %). Un total de 1806 (76,9 %) personnes déclarent ne pas avoir suivi de chimioprophylaxie. Parmi les 542 personnes qui déclarent avoir suivi un traitement chimioprophylactique lors du séjour, le médicament est connu et la compliance précisée dans 407 cas (75,1%).

Un total de 454 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 390 cas (85,9 %). Dans 122 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 15.

La doxycycline est le 1^{er} traitement chimioprophylactique (49,0 %) déclaré par les patients qui ont fait un accès palustre sous chimioprophylaxie adaptée à la zone visitée, suivi par l'atovaquone-proguanil (28,0 %), puis la méfloquine.

Tableau 15. Molécules utilisées en chimioprophylaxie en fonction de l'observance déclarée pour la population totale à *Plasmodium falciparum* en 2017 (n=390)

Chimioprophylaxie	Observance Chimioprophylaxie							
	Arrêt prématuré		Observance irrégulière		Observance régulière		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
AV+PG	41	25.2%	27	28.1%	38	28.4%	106	27.2%
CQ	2	1.2%	8	8.3%	7	5.2%	17	4.4%
CQ+PG	1	0.6%	1	1.0%	1	0.7%	3	0.8%
DX	93	58.1%	51	53.1%	61	45.5%	205	52.5%
MQ	20	12.5%	9	9.4%	23	17.2%	52	13.3%
PG	3	1.9%	0	0.0%	4	3.0%	7	1.8%
Total	160	100.0%	96	100.0%	134	100.0%	390	100.0%

3.2.1.3. Paludisme de la femme enceinte

Pour l'année 2017, 39 cas de paludisme chez une femme enceinte ont été déclarés par le réseau des correspondants du CNR du Paludisme. La proportion de ces accès reste stable au cours du temps. Parmi les 36 cas renseignés pour l'origine, 34 (94,4 %) sont d'origine Africaine, une est d'origine Caucasienne et une d'autre origine (Haïtienne). *Plasmodium falciparum* est responsable dans 35/39 cas (89,7 %), *P. ovale* dans 4 cas. Les cas sont tous acquis en Afrique sub-Saharienne. Les accès sont déclarés simples dans 31/37 (83,8 %) cas, asymptomatiques dans 2 cas (5,4 %) et graves dans 4 cas (10,8 %). Dans 24/33 (72,7 %) cas la patiente résidait en France et dans 9 cas (27,3 %) elle résidait habituellement en Afrique. La prise d'une chimioprophylaxie est renseignée dans 29 cas (74,4 %) et seulement 4 patientes ont déclaré une prise médicamenteuse. Ces 4 patientes ont fait un accès à *P. falciparum*. Le médicament déclaré était l'atovaquone-proguanil dans 3 cas (prise occasionnelle ou arrêt prématuré) et la chloroquine dans 1 cas. Les traitements sont précisés pour 36/39 (92,3 %) cas. Pour l'espèce *P. ovale*, pour les 3 cas renseignés, le traitement de première intention a été la chloroquine dans 2 cas et l'artemether-lumefantrine dans 1 cas. Pour les 33/35 (94,3 %) cas à *P. falciparum* renseignés, les traitements prescrits en première intention sont par ordre de fréquence : l'artemether-lumefantrine dans 10 cas (30,3%), la quinine dans 9 cas (27,3 %) dont à 7 reprises par voie intraveineuse pour le traitement d'une patiente avec un accès grave et de six patientes avec des vomissements incoercibles, l'atovaquone-proguanil est rapporté dans 5 cas (15,1 %), l'artésunate par voie intraveineuse dans 6 cas (18,2%) dont 2 accès graves et 4 accès simples (dont 3 avec vomissements) et la méfloquine et la DHA-pipéraquline à une reprise chacun.

3.2.1.4. Efficacité thérapeutique

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 8,6% des cas, tous traitements confondus (Tableau 16). Le suivi parasitologique pour la détection des échecs thérapeutiques précoces est peu réalisé (26,8% des cas) et seuls 20,3% des cas ont bénéficié d'un suivi tardif (J28 +/-2). Ces suivis ont permis de confirmer 20,0% (543 cas) de succès thérapeutique ; 13 échecs tardifs ont été diagnostiqués (Tableau 17).

Tableau 16. 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 en 2017.

	J3-J4		J7 +/-1		J28 +/-2	
	N	%	N	%	N	%
Stade asexué absent	1014	37,3%	728	26,8%	552	20,3%
Stade asexué présent	207	7,6%	6	0,2%	11	0,4%
Inconnu ou non réalisé	1497	55,1%	1984	73,0%	2155	79,3%
Total	2718	100,0%	2718	100,0%	2452	100,0%

Tableau 17. 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 2017.

	Total cas déclarés	
	N	%
RCPA	543	20,0
ETP	3	0,1
EPT	12	0,4
ECPT	1	0,1
Inconnu	2158	79,4
Total	2452	100

Suivi de l'efficacité des traitements par atovaquone-proguanil

Au total en 2017, 561 cas de de *P. falciparum* ont été traités par l'atovaquone-proguanil en 1^{ère} intention. 234 patients ont été déclarés guéris, dont 84 avaient bénéficié d'un contrôle J28 qui était négatif. Sept échecs tardifs ont été identifiés et décrits ci-dessous. En 2017, sept échecs thérapeutiques tardifs après traitement par atovaquone-proguanil ont été déclarés au CNR et explorés. La souche de *P. falciparum* isolée au moment de l'échec thérapeutique était mutant sur le gène du cytochrome b dans tous les cas.

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

Patient 2017CBY0002. Homme de 42 ans, origine ethnique et poids non précisés. Pendant 2 ans, le patient alternait des séjours de 4 mois au Mozambique et de 3 semaines en France. Pas de prophylaxie déclarée. Le patient a présenté quatre accès palustres consécutifs aux dates suivantes : mi 2016, 12/2016, 30/01/2017 (sans recherche du parasite), et 22/02/2017. Les 3 premiers accès ont été traités par atovaquone-proguanil et le 4^{ème} par dihydroartémisinine-pipéraquline. L'enregistrement dans la base du CNR porte sur le 4^{ème} accès. Le 22/02/2017, le patient consulte à l'hôpital, un accès simple avec vomissement à *P. falciparum* est diagnostiqué avec une parasitémie à 1%. Le patient est hospitalisé et traité le jour-même par dihydroartémisinine-pipéraquline. Contrôle J2 négatif, puis perdu de vue.

Analyse moléculaire et dosage d'antipaludiques : seul le prélèvement du 22/02/2017 (#BM : (1702075679) est disponible. Codon cytb268 mutant (Y268S, sérine), génotype dhfr triple mutant 51, 59,108 (IRN).

Conclusion : Probable sélection de résistance à l'atovaquone-proguanil durant les 3 traitements antérieurs par atovaquone-proguanil.

Patient 2017NTE0005. Homme de 53 ans, né en France, origine ethnique caucasienne, et poids non précisé, sans antécédent déclaré de paludisme. Il a voyagé 3 semaines au Cameroun du 21/12/2016 au 11/01/2017 avec une protection personnelle anti-moustique épisodique mais sans chimioprophylaxie. Premier accès palustre diagnostiqué le 23/01/2017 à *P. falciparum* (parasitémie 13%), traitement en ville par atovaquone-proguanil mais sans repas gras et vomissements plus de 2 heures après la prise (contrôle à J3: 0,1%). Nouvelle consultation le 14/02/2017 à l'hôpital pour fièvres aiguës, nausées et vomissements. Un accès simple à *P. falciparum* est diagnostiqué avec une parasitémie à 0,16%. Le patient est hospitalisé et traité le jour-même par dihydroartémisinine-pipéraquline. Contrôles J7, J14 et J28 négatifs.

Analyse moléculaire et dosage d'antipaludiques : seul le prélèvement du 14/02/2017 (#BM : (1702048062) est disponible. Codon cytb268 mutant (Y268S, sérine), génotype dhfr triple mutant 51, 59,108 (IRN).

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

Patient 2017TRS0025. Adolescent de 14 ans, né en France, origine ethnique africaine, poids non précisé. Il a voyagé deux mois au Mali durant l'été 2017 (retour 21/08/2017) avec une protection personnelle anti-moustique épisodique et chimioprophylaxie régulière par atovaquone-proguanil. Le 08/09/2017, le patient consulte à l'hôpital, un accès simple avec vomissement à *P. falciparum* est diagnostiqué avec une parasitémie à 2%. Le patient est hospitalisé et traité le jour-même par atovaquone-proguanil. Contrôles J3 positif, J7 négatif et J28 (05/10/2017) à nouveau positif (parasitémie à 0,04%). Le patient est hospitalisé et traité par artemether-lumefantrine. Pas de suivi rapporté.

Analyse moléculaire et dosage d'antipaludiques : les prélèvements du 08/09/2017 (#BM : (1709030838) et du 05/10/2017 (#BM : 1710021188) sont disponibles. Les deux présentent : codon cytb268 mutant (Y268C, cystéine), génotype dhfr triple mutant 51, 59,108 (IRN).

Conclusion : Echec du traitement atovaquone-proguanil par résistance parasitaire moléculaire à l'atovaquone et au cycloguanil. L'isolat parasitaire au diagnostic initial étant déjà résistant à l'atovaquone-proguanil, il faudrait interroger plus précisément le patient pour savoir comment la chimioprophylaxie par atovaquone-proguanil a été réellement conduite pour interpréter l'origine de la résistance.

Patient 2017NARBONNE. Homme de 60 ans, poids et origine ethnique non précisés. Le 19/06/2017, le patient consulte à l'hôpital de Narbonne, un accès à *P. falciparum* est diagnostiqué avec une parasitémie à 1,48%. Détails de la prise en charge et de l'évolution inconnus.

Analyse moléculaire et dosage d'antipaludiques : pour le prélèvement du 19/06/2017 (#BM : 1706071748), codon cytb268 mutant (Y268C, cystéine), génotype dhfr triple mutant 51, 59,108 (IRN).

Conclusion : Présence d'un isolat de *P. falciparum* résistant à l'atovaquone et au cycloguanil. L'histoire antérieure récente du patient est en cours d'enquête.

Patiente 2017CCH0009. Femme de 66 ans, résidant en France, origine ethnique et poids non précisés. Elle a voyagé au Cameroun, dates, durées et moyens de prévention antipaludiques non précisés. Première accès palustre diagnostiqué en ville le 15/03/2017 à *P. falciparum* (1%) et traité par atovaquone-proguanil. Nouvelle consultation le 19/03/2017 à l'hôpital pour fièvre et céphalées nocturnes (plus thrombopénie), un accès simple à *P. falciparum* est diagnostiqué avec une faible parasitémie (27 parasites par microL de sang). La patiente est hospitalisée et traitée le jour-même par atovaquone-proguanil. Pas de contrôles rapportés. Nouvelle consultation le 05/04/2017, un accès à *P. falciparum* est diagnostiqué avec une faible parasitémie (0,048%). Détails de la prise en charge et de l'évolution inconnus.

Analyse moléculaire et dosage d'antipaludiques. Prélèvement du 19/03/2017 (#BM : 1703075226) : codon cytb268 sauvage (Y268, tyrosine), génotype dhfr triple mutant 51, 59,108 (IRN). Prélèvement du 05/04/2017 (#BM : 1704018661) : codon cytb268 mutant (Y268S, sérine), génotype dhfr triple mutant 51, 59,108 (IRN).

Conclusion : Echec du traitement atovaquone-proguanil par résistance parasitaire moléculaire à l'atovaquone et au cycloguanil. Probable acquisition de la résistance au cours du traitement.

Patient 2017CMF0012. Jeune garçon de 3 ans, né et résidant en France, origine ethnique et poids non précisés. Il a voyagé 3 semaines en Centre Afrique durant l'été 2017 (09/08/2017 au 30/08/2017) avec une protection personnelle anti-moustique épisodique mais avec chimioprophylaxie par atovaquone-proguanil arrêtée prématurément le 12/08/2017. Consultation le 10/09/2017 à l'hôpital, un accès simple sans vomissement à *P. falciparum* est diagnostiqué avec une parasitémie à 0,68%. Le patient est hospitalisé et traité par atovaquone-proguanil. Contrôle J3 positif. Nouvelle consultation le 06/10/2017 (contrôle J28, positif). Un accès à *P. falciparum* est diagnostiqué avec une faible parasitémie (0,048%). Le patient est hospitalisé et traité par artemether-lumefantrine, contrôle J3 négatif.

Analyse moléculaire et dosage d'antipaludiques. Prélèvement du 10/09/2017 (#BM : 1709035521) : codon cytb268 sauvage (Y268, tyrosine), Prélèvement du 06/10/2017 (#BM : 1710033013) : codon cytb268 mutant (Y268C, cystéine). Génotypes dhfr non disponibles.

Conclusion : Echec du traitement atovaquone-proguanil par résistance parasitaire moléculaire à l'atovaquone. Probable acquisition de la résistance au cours du traitement.

Patiente 2017RMS0015. Enfant de 6 mois, née et résidant en France, d'origine africaine et pesant 6 kg. Elle a voyagé 2 semaines au Nigéria durant l'été 2017 (18/06/2017 au 02/07/2017) sans prévention antipaludique. Consultation le 09/07/2017 à l'hôpital pour fièvre aigue, un accès simple sans vomissement à *P. falciparum* est diagnostiqué avec une faible parasitémie (0,0001%). La patiente est hospitalisée et traitée le jour-même par atovaquone-proguanil. Contrôles J3 positif, J7 négatif et J25 (04/08/2017) à nouveau positif (parasitémie à 0,04%). La patiente est hospitalisée et traitée par artemether-lumefantrine. Pas de suivi rapporté.

Analyse moléculaire et dosage d'antipaludiques. Prélèvement du 09/07/2017 (#BM : 1707033515) : codon cytb268 sauvage (Y268, tyrosine) ; Prélèvement du 04/08/2017 (#BM : 1708043738) : codon cytb268 mutant (Y268C, cystéine). Génotypes dhfr non disponibles.

Conclusion : Echec du traitement atovaquone-proguanil par résistance parasitaire moléculaire à l'atovaquone. Probable acquisition de la résistance au cours du traitement.

Suivi de l'efficacité thérapeutique des traitements par artémether-luméfiantrine

Au total en 2017, 302 cas de *P. falciparum* ont été traités par l'artémether-luméfiantrine en 1^{ère} intention. 110 patients ont été déclarés guéris, dont 42 avaient bénéficié d'un contrôle J28 qui était négatif. Sept échecs tardifs ont été identifiés et décrits ci-dessous. Sept échecs tardifs ont été identifiés et décrits ci-dessous.

Description des échecs cliniques et parasitologiques tardifs à l'artémether-luméfantrine

Patient 2017SBG0001. Homme de 30 ans, d'origine ethnique caucasienne, ayant séjourné au Mali pendant 2 semaines. Les symptômes débutent à son retour en France. Un accès à *P. falciparum* (parasitémie 0,2%) est diagnostiqué. Un traitement par l'artémether-luméfantrine (Riamet®) est initié. Les prélèvements de contrôle à J3 et J7 sont négatifs mais le patient consulte de nouveau à J23 pour fièvre où le diagnostic d'un nouvel accès à *P. falciparum* est posé (frottis positif avec une parasitémie à 1,3%). Le traitement de la rechute n'est pas précisé.

L'isolat initial n'a pas pu être étudié *in vitro*. Les marqueurs moléculaires sont sans particularité.

Patient 2017BCB0016. Femme de 45 ans, d'origine ethnique africaine, ayant séjourné en Côte d'Ivoire pendant 3 semaines. Les symptômes débutent à son retour en France. Un accès à *P. falciparum* (parasitémie 2,41%) est diagnostiqué : la patiente est traitée en hospitalisation par artemether+luméfantrine, contrôle J7 négatif, puis elle consulte de nouveau à J31, où un diagnostic de rechute à *P. falciparum* est posé avec un frottis positif à 0,07%. La patiente est traitée avec succès par atovaquone-proguanil.

L'isolat initial ne présente pas de diminution de sensibilité *in vitro* à la dihydro-artémisinine (métabolite de l'artémether) ou à la luméfantrine. Les marqueurs moléculaires sont sans particularité.

Patient 2017SBG0014. Homme de 33 ans, d'origine ethnique caucasienne, ayant séjourné au Nigeria pendant 10 jours sans prophylaxie. Les symptômes débutent à son retour en France. Un accès à *P. falciparum* (parasitémie 6,6%) est diagnostiqué : le patient est traité en hospitalisation par artemether+luméfantrine. Le suivi J3 est négatif, mais le patient revient à J20 avec de la fièvre : une rechute à *P. falciparum* est diagnostiquée avec une parasitémie à 1,8%. Le traitement de la rechute n'est pas précisé.

L'isolat de l'échec thérapeutique ne présente pas de diminution de sensibilité *in vitro* à la dihydro-artémisinine (métabolite de l'artémether) ou à la luméfantrine. Les marqueurs moléculaires sont sans particularité.

Patient 2017ANG0007. Homme de 49 ans, d'origine ethnique caucasienne, ayant séjourné en Guinée pendant 12 semaines. Les symptômes débutent à son retour en France. Un accès à *P. falciparum* (parasitémie 0,6%) est diagnostiqué: le patient est traité en hospitalisation par artemether+luméfantrine. Les suivis J3 et J7 sont négatifs, mais le patient revient à J26 avec de la fièvre : une rechute à *P. falciparum* est diagnostiquée avec une parasitémie à 0,16%. Le patient est traité par atovaquone-proguanil et perdu de vue.

Les isolats n'ont pas pu être étudiés *in vitro*. Les marqueurs moléculaires sont sans particularité.

Patient 2017TRS0027. Enfant de 1 an, d'origine ethnique africaine, ayant séjourné au Niger pendant 4 semaines. Les symptômes débutent à son retour en France. Un accès à *P. falciparum* (parasitémie 3,9%) est diagnostiqué: l'enfant est traité en hospitalisation par artemether+luméfantrine. Les suivis J3 et J7 sont négatifs, mais le patient revient à J26 avec de la fièvre : une rechute à *P. falciparum* est diagnostiquée avec une parasitémie à 0,16%. Le patient est traité par atovaquone-proguanil et guéri.

L'isolat de l'échec n'a pas pu être étudié *in vitro*. Les marqueurs moléculaires sont sans particularité.

Patient 2017SBG0047. Homme de 64 ans, d'origine ethnique caucasienne, ayant séjourné au Kenya pendant 3 semaines. Les symptômes débutent à son retour en France. Un accès à *P. falciparum* (parasitémie 1,5%) est diagnostiqué: le patient est traité en hospitalisation par artemether+luméfantrine. Le suivi J3 est positif et le suivi J7 est négatif, mais le patient revient à J22 avec de la fièvre : une rechute à *P. falciparum* est diagnostiquée avec une parasitémie à 0,3%. Le patient est traité par atovaquone-proguanil et guéri.

Les isolats n'ont pas pu être étudiés *in vitro*. Les marqueurs moléculaires sont sans particularité

Patient 2017LRU. Homme de 35 ans, d'origine ethnique caucasienne, ayant séjourné au Mozambique. Les symptômes débutent à son retour en France. Un accès à *P. falciparum* est diagnostiqué: le patient est traité par artemether+luméfantrine. Le suivi J7 est négatif, mais le patient revient à J21 avec de la fièvre : une rechute à *P. falciparum* est diagnostiquée avec une parasitémie à 1%. Le traitement de la rechute n'est pas précisé.

L'isolat de la rechute n'a pas pu être étudié *in vitro*. Les marqueurs moléculaires sont sans particularité

Suivi de l'efficacité thérapeutique des traitements par l'association dihydro-artémisinine-pipéraquline

Au total en 2017, 860 cas de *P. falciparum* ont été traités par l'artémether-luméfantrine en 1^{ère} intention. 409 patients ont été déclarés guéris, dont 164 avaient bénéficié d'un contrôle J28 qui était négatif. Cinq patients ont présenté un échec clinique et parasitologique à J28 notifié au CNR décrits ci-dessous.

Patient 2017STJ0006. Homme de 59 ans, d'origine ethnique caucasienne, ayant séjourné au Cameroun pendant 3 semaines. Les symptômes débutent à son retour en France. Un accès à *P. falciparum* (parasitémie 2,1%) est diagnostiqué : un traitement par dihydroartémisinine-pipéraquline est initié. Les suivis J3 et J7 sont négatifs, mais le patient revient à J28 avec de la fièvre : une rechute à *P. falciparum* est diagnostiquée avec une parasitémie à 0,046%. Le patient est traité par atovaquone-proguanil avec un contrôle à J5 négatif.

L'isolat initial a pu être étudié *in vitro* : il ne présentait pas de diminution de sensibilité *in vitro* à la dihydro-artémisinine (métabolite de l'artémether) ou à la pipéraquline. Les marqueurs moléculaires sont sans particularité.

Patient 2017HMN0036. Femme de 57 ans, d'origine ethnique africaine, ayant séjourné au Tchad pendant 12 semaines. Les symptômes débutent à son retour en France. Un accès à *P. falciparum* (parasitémie 0,9%) est diagnostiqué : un traitement par dihydroartémisinine-pipéraquline est initié. Les suivis J3 et J7 sont négatifs, mais la patiente revient à J28 avec de la fièvre : une rechute à *P. falciparum* est diagnostiquée avec une parasitémie à 2%. La patiente a été traitée par quinine avec un contrôle à J5 négatif.

L'isolat initial n'a pas pu être étudié *in vitro*. Les marqueurs moléculaires sont sans particularité.

Patient 2017SDN0100. Homme de 66 ans, d'origine ethnique africaine, ayant séjourné au Cameroun pendant 2 semaines. Les symptômes débutent à son retour en France. Un accès à *P. falciparum* (parasitémie 0,6%) est diagnostiqué : un traitement par dihydroartémisinine-pipéraquline est initié. Les suivis J3 et J7 sont négatifs, mais le patient revient à J28 avec de la fièvre : une rechute à *P. falciparum* est diagnostiquée avec une parasitémie à 1%. Le traitement de la rechute n'est pas précisé.

L'isolat de la rechute a pu être étudié *in vitro* : il ne présentait pas de diminution de sensibilité *in vitro* à la dihydro-artémisinine (métabolite de l'artémether) ou à la pipéraquline. Les marqueurs moléculaires sont sans particularité sur les deux isolats (initial et de la rechute).

Patient 2017RNN. Homme de 50 ans, d'origine ethnique africaine. Un accès à *P. falciparum* (parasitémie 17%) est diagnostiqué au retour d'un séjour au Congo : un traitement par dihydroartémisinine-pipéraquline est initié. Une rechute à *P. falciparum* est diagnostiquée à J27 avec une parasitémie à 1,9%. Le patient est traité par artésunate.

L'isolat de la rechute n'a pas pu être étudié *in vitro*. Les marqueurs moléculaires sont sans particularité sur les deux isolats (initial et de la rechute).

Patient 2017XXX. Femme de 69 ans, d'origine ethnique caucasienne, ayant séjourné à Madagascar pendant 3 semaines sans prophylaxie palustre. Les symptômes débutent à son retour en France. Un

accès à *P. falciparum* est diagnostiqué : un traitement par dihydroartémisinine-piparaquine est initié. La patiente revient à J27 avec de la fièvre : une rechute à *P. falciparum* est diagnostiquée avec une parasitémie à 0,1%. Le traitement de la rechute n'est pas précisé.

L'isolat n'a pas pu être étudié *in vitro*. Les marqueurs moléculaires sont sans particularité.

3.2.2. Distribution des cas de paludisme aux Antilles

En Martinique, en 2017, 11 cas de paludisme d'importation ont été diagnostiqués au CHU de Fort de France : 8 contractés en Côte d'Ivoire, 1 au Nigéria, 1 au Cameroun et 1 au Burkina Faso. L'espèce *P. falciparum* était retrouvée dans 9 cas (dont une association à *P. vivax*) et 2 cas étaient dus à *P. ovale*. La transmission des isolats au laboratoire coordonnateur et la déclaration des cas ont été mis en place en 2018.

En Guadeloupe, en 2017, quatre cas de paludisme d'importation ont été diagnostiqués au CHR de Point à Pitre : 2 en provenance du Bénin, un de Côte d'Ivoire et un du Cameroun. L'espèce *P. falciparum* a été identifiée pour les 4 cas. C'était 4 accès simples traités efficacement par l'artéméther-luméfantrine. La transmission des souches au laboratoire coordonnateur et la déclaration des cas ont été mis en place en 2018.

3.2.3. Paludisme grave en 2017

3.2.3.1. Cas graves déclarés dans la base CNR du Paludisme en 2017

Le type clinique de l'accès est renseigné dans 2603 cas (95,7 %) dont 379 (14,5 %) sont des accès graves au moment du diagnostic (Figure 20). Les critères de gravités sont renseignés dans 372 cas (98,1 %). Ce chiffre est en augmentation par rapport à 2016 (12,6 %) et confirme la tendance des dernières années à l'augmentation marquée des accès graves (Figure 21 et Figure 22)

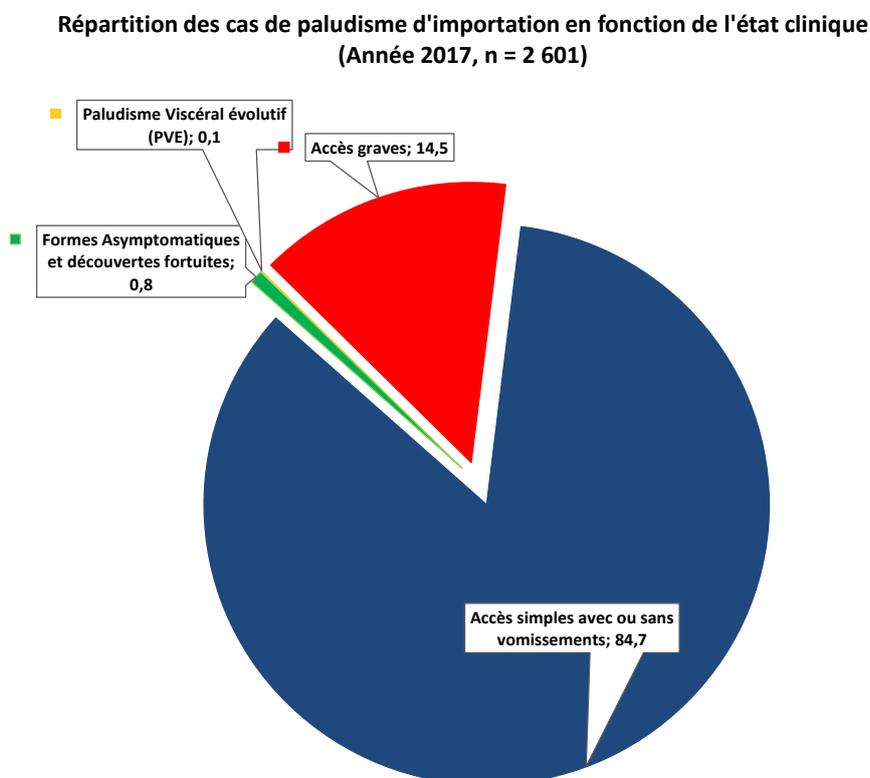


Figure 20 : Répartition des cas en fonction de l'état clinique, CNR du Paludisme, année 2017, n = 2 601

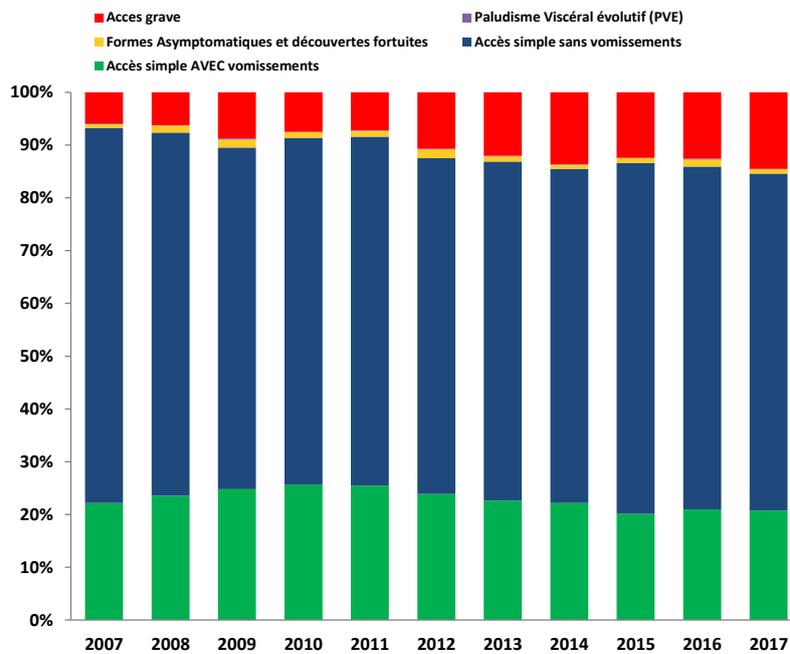


Figure 21 : Évolution de la répartition de l'état clinique selon les années de 2007 à 2017

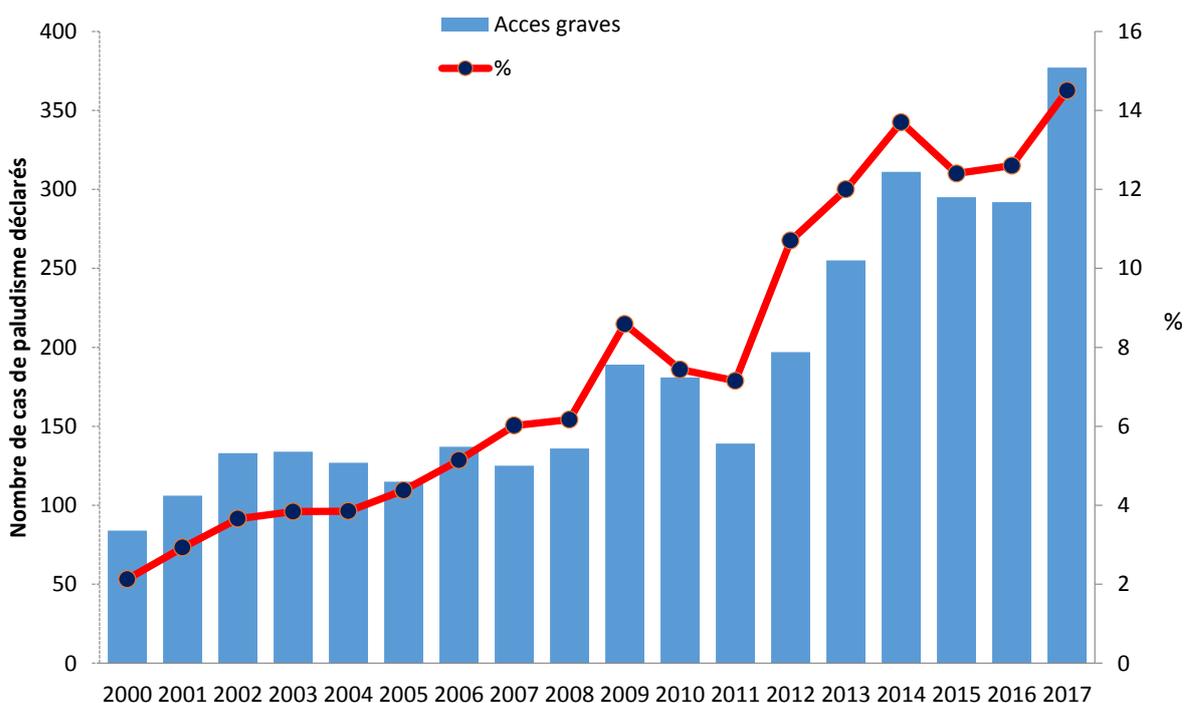


Figure 22 : Évolution des cas graves de paludisme d'importation en France de 2000 à 2017

Sur un total possible de 16, de 1 à 11 critères de gravités sont rapportés par patient. Dans 148 cas un seul critère est rapporté. Les critères de gravités les plus fréquemment rapportés sont : la parasitémie >4% (n=221, 59,4 %), isolé dans 80 cas ; la bilirubinémie totale $\geq 50 \mu\text{mol/l}$, (n=121, 32,5 %), isolé dans 15 cas ; Les troubles neurologiques mineurs (n=109, 29,3 %), isolé dans 21 cas ; les lactates >2 $\mu\text{mol/l}$ (n=75, 20,2 %), isolé dans 2 cas ; un ictère (n=72, 19,4 %), isolé dans 1 cas et l'état de choc (n=28, 7,5 %), isolé dans 5 cas.

Parmi les 379 accès graves, le sex-ratio H/F est de 2,3 ; 333 patients (87,9 %) sont des sujets de plus de 15 ans et 46 des enfants ≤ 15 ans. L'espèce plasmodiale en cause est identifiée pour tous les cas, il

s'agit de *P. falciparum* seul dans 368 cas (98,9 %) ou en association avec une autre espèce dans 1 cas (associations avec *P. ovale*).

On relève 8 accès graves (2,1 %) avec une espèce autre que *P. falciparum*, 5 avec *P. ovale*, 2 avec *P. vivax* et 1 avec *P. malariae*. Un cas de *P. ovale* correspond à un militaire de 31 ans hospitalisé pour une détresse respiratoire avec de la fièvre à 40°C, 2 mois après le retour d'un séjour en République Centrafricaine. La goutte épaisse retrouve des gamétocytes seuls. Le diagnostic d'espèce est confirmé par PCR. Ce patient est plongeur de combat. Au vu de ces éléments, les troubles rapportés ne sont probablement pas en rapport avec une infection palustre. La détresse respiratoire est plus probablement en lien avec son activité ou une infection bactérienne ou virale concomitante non précisée. Un autre cas correspond à une infection active (présence de trophozoïtes et de schizontes) à *P. ovale* avec une parasitémie supérieure à 4%, associée à des troubles de la conscience minimes après une perte de connaissance initiale, chez un sujet africain résident au Nigéria. Dans 3 cas (1 *P. vivax* et 2 *P. ovale*) on retrouve une hyperbilirubinémie >50, associé à un état de choc pour un jeune patient de 25 ans réfugié Pakistanais. Un état de choc isolé est rapporté dans deux autres cas, 1 *P. vivax* et 1 *P. ovale*. Le cas rapporté avec *P. malariae* correspond à un syndrome hémorragique. Le traitement initial de l'accès connu dans les 8 cas a été un traitement per os dans 3 cas (2 par la dihydroartémisinine + pipéraquline et 1 par la chloroquine), par l'artésunate IV dans 3 cas et par la quinine intraveineuse dans 2 cas. L'évolution a été favorable à chaque fois.

Parmi les 339 cas (89,4 %) avec l'origine géographique mentionnée, 244 (71,9 %) étaient originaires d'Afrique, 90 (26,5 %) étaient Caucasiens. Le pays visité lieu probable de contamination est spécifié dans 373 cas (98,4 %). Il s'agit d'un pays d'Afrique sub-Saharienne dans 367 cas (98,4 %).

Lorsque l'information sur la chimioprophylaxie était connue (n=329, 86,8%), 63 patients (19,1 %) ont déclaré avoir pris un médicament en prévention contre le paludisme. Néanmoins, seuls 13 ont déclaré une bonne compliance, 5 avec l'atovaquone-proguanil, 4 avec la méfloquine et 5 avec la doxycycline.

Le lieu de prise en charge thérapeutique était renseigné pour 368 patients (97,1 %) et 361 (98,1 %) ont été immédiatement hospitalisés. Cependant 7 ont bénéficié d'un traitement ambulatoire. Ces patients avaient 1 ou 2 critères de gravité (parasitémie >4% dans 5 cas). Le traitement était précisé dans tous les cas et il s'agissait de la dihydroartémisinine + pipéraquline dans 5 cas et d'atovaquone-proguanil dans 2 cas.

Le traitement est connu pour 358 patients (94,5 %). Le traitement de première intention est un médicament administré par voie parentérale dans 284 cas (79,3 %) Le médicament administré par voie parentérale était la quinine IV dans 27 cas (7,5 %), contre 25,4% en 2016 et l'artésunate IV dans 256 cas (71,5 %) contre 74,6 % en 2016. Le médicament de première intention est administré par voie orale dans 74 cas (20,7 %). Il s'agit de la dihydroartémisinine + pipéraquline dans 42 cas, de l'artéméthér-luméfantrine dans 17 cas, de l'atovaquone-proguanil dans 14 cas, et de la chloroquine dans 1 cas. La chloroquine a été administrée pour une infection à *P. ovale*.

Globalement, lorsque l'on combine les médicaments de première et de deuxième ligne, l'artésunate a été administré à 278 patients soit 77,6 % du total des cas graves avec le traitement renseigné. La molécule a été administrée à 245 sujets de 15 ans et plus, soit 74 % des adultes avec un accès grave et 33 enfants de moins de 15 ans soit 72 % des enfants avec un accès grave. Ces chiffres sont stables par rapport à 2016.

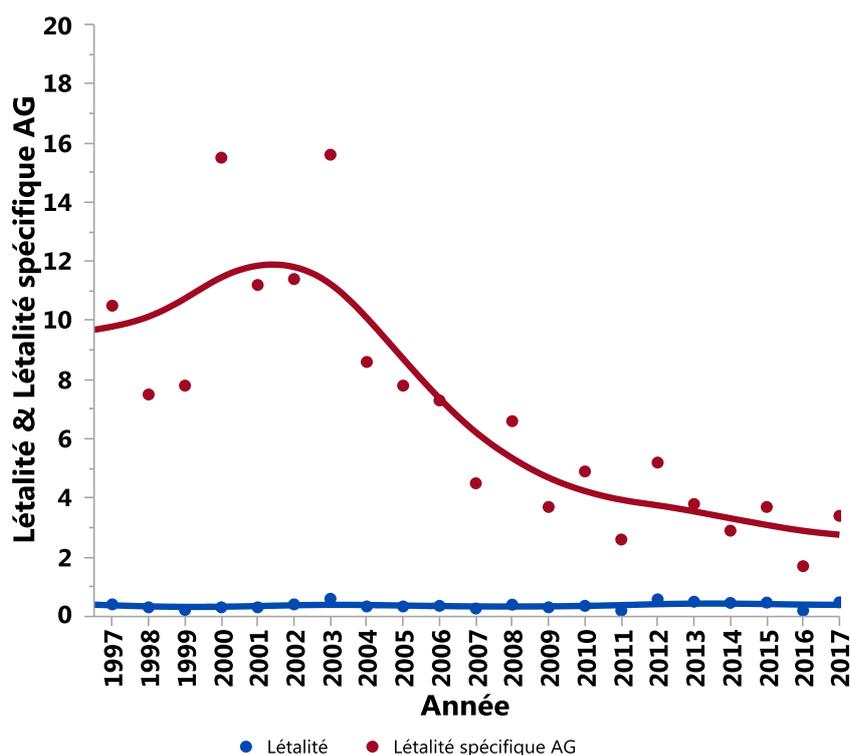


Figure 23 : Évolution globale et spécifique de la létalité de 2000 à 2017.

Données d'utilisation et d'efficacité clinique et parasitologique de l'artésunate intraveineux (ASIV) depuis sa mise à disposition en France (sources CNR du paludisme site Pitié Salpêtrière et données du Centre National de Pharmacovigilance).

- L'artésunate est disponible en France depuis mai 2011 dans le cadre d'une ATU nominative à validation différée pour le traitement de l'accès grave toutes espèces plasmodiales. Entre mai 2011 et décembre 2017, 1286 patients ont reçu de l'artésunate IV en France (66% sont des hommes). La médiane des âges au traitement est à 42,5 ans.
- Les 3 premiers pays d'endémie, pays d'acquisition du paludisme pour ces malades (N=1240) sont la Côte d'Ivoire (23%), le Cameroun (17%) et le Mali (10%).
- L'accès est grave (critères OMS/SPIILF), simple avec vomissements et simple sans vomissements dans 98,5%, 0,5% et 1% des cas respectivement (N=1286).
- Les espèces plasmodiales responsables sont *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. ovale* dans 99,6%, 0,2% et 0,2% respectivement (N=1266).
- La parasitémie médiane au diagnostic est de 5,6% (IQR₂₅₋₇₅ [1,5%-9,75%]) (N=1161).
- Le taux d'utilisation de l'Artésunate en France est en augmentation constante depuis sa mise à disposition au détriment de la quinine, traitement de référence historique [1]. En 2017 la proportion d'accès grave à *P. falciparum* traité en première intention par l'Artésunate IV s'établit à 63,2% (Figure 24)

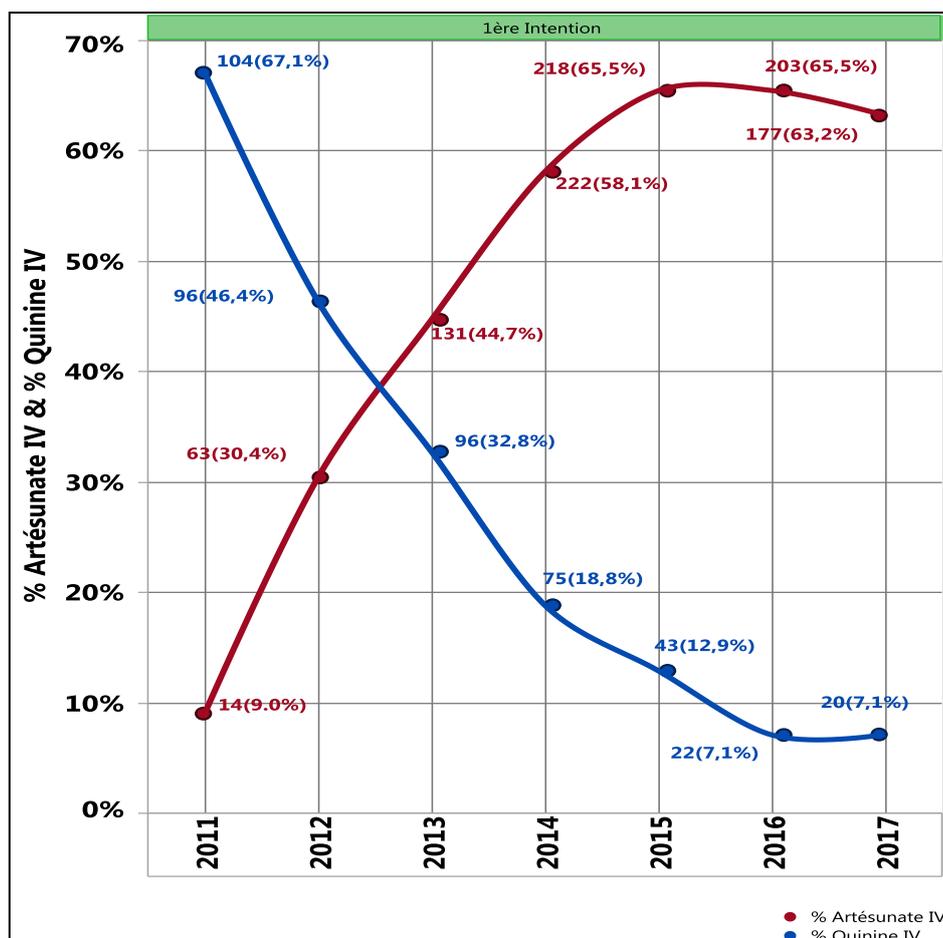


Figure 24 : Taux d'utilisation de l'Artésunate IV vs. Quinine IV en première intention dans le traitement du paludisme grave d'importation en France 2011-2017 (Données CNR du paludisme d'importation, base non consolidée décembre 2017).

- L'efficacité clinique est estimée à 95,7% (IC95% [94,2-96,9]) portant sur la variable guéri/décédé renseignée pour 869 patients. Le taux de données manquantes pour cette variable atteint 32,4%. Le taux de mortalité brute des accès palustres traités par ASIV est estimé à 2,9%.

Données de tolérance de l'AS en France depuis sa mise à disposition

Sur la période de mai 2011 au 10/04/2018, **162** patients (dont 9 sont décédés) ont fait l'objet d'une déclaration d'effet secondaire (effet indésirable-EI) émanant soit du groupe expert en charge du suivi de la mise à disposition de l'AS en France, soit du réseau français des centres de pharmacovigilance, soit des deux. Les effets déclarés sont au nombre de **216** avec de 1 à 5 EI par patient(e). Tous ont été résolutifs ou stables dans les limites des informations recueillies. A l'exception d'un cas l'AS prescrit l'a été dans un contexte de paludisme grave. Aucun des 9 patients décédés ne semblent l'avoir été en rapport avec l'AS reçu (défaillance multiviscérale n=6, hématome extradural n=1). Deux patients sont décédés, l'un d'un arrêt cardiaque et l'autre de troubles du rythme et de conduction amenant au décès. L'imputabilité de l'AS dans ces 2 décès semble faible sans qu'il soit possible de manière formelle de l'exclure complètement (rapport de tolérance de l'ANSM numéro 5 - http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/181a21647b7ed15764e3a7f184e4a380.pdf). La survenue, rare, mais décrite [2] de troubles du rythme cardiaque (allongement du QT, FA, TV) justifie le recueil proactif de ce type d'effet indésirable.

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

Les états anémiques

Les états anémiques sont au nombre **123** et représente 57% des motifs de déclarations d'EI. Basé sur la classification détaillée dans 2 publications du groupe expert [2, 3] la répartition des cas peut se faire de la manière suivante :

- 46 EI anémique peuvent être classés en profil « classique » ou « indéterminé »,
- 23 en profil « persistant »,
- 47 en profil anémie hémolytique différée (« PADH » pour *Post-Artesunate Delayed Hemolysis*) telle que décrite dans les publications.
- Pour 7 patients supplémentaires une anémie hémolytique et un test de Coombs positif ont été déclarés.

Tous patients confondus le taux d'hémoglobine le plus bas enregistré à l'occasion de l'épisode a été de 3,4 g/dL. La proportion de PADH parmi les EI anémiques est de 38%. Aucun des décès survenus et déclarés dans le contexte d'EI ne semble devoir être imputé à un état anémique. Cependant il est à noter qu'une hémolyse importante peut entraîner une hémoglobinurie (rapportée à 3 reprises dans la cohorte) avec défaillance rénale telle qu'antérieurement publiée [4].

Les effets indésirables généraux

Les EI généraux ont été au nombre de **93**, touchant tous les organes ou appareil à l'exception du système locomoteur et ostéo-articulaire.

- **EI cutanés (8)** : effluvium télogène (1), prurit (1), éruption cutanée fébrile ou non (4), érythème du visage (1), urticaire (1).
- **EI neurologiques et sensoriels (10)** : tremblements (1), hypoacousie (2), incontinence urinaire (1), l'un des patients avait reçu de la quinine auparavant, dysgueusie (1), aphasie (1), désorientation temporo spatiale (1), coma (1), syndrome cérébelleux (1), encéphalite tardive (probable PMNS) (1).
- **EI hématologiques (hors anémie) (16)** : agranulocytose (2), réticulocytopenie (1), bien que déclarée à la pharmacovigilance celle-ci semble plus être le fait du paludisme lui-même (réticulocytopenie à J3), thrombopénie (2), érythroblastémie (1), réticulocytose (1), pancytopenie - (1), haptoglobine diminuée et hémolyse et LDH augmenté déclarés comme tels (8).
- **EI cardiocirculatoires (16)** : bradycardie (4), tachycardie (1), allongement du QT (2), arythmie sinusale (1), asystolie (1), trouble de conduction sino auriculaire (1), anomalie de repolarisation (1), nécrose des extrémités (gangrène symétrique) (1), rétinopathie hypertensive (1), dyspnée (1), malaise (1), hémorragie digestive (1).
- **EI néphrologiques et ioniques (11)** : nécrose tubulaire aiguë et insuffisance rénale (6), rhabdomyolyse (1), hyperkaliémie (1), hémoglobinurie (3).
- **EI hépato-bilio-pancréatiques (30)** : hypoglycémie (1), le patient avait reçu de la quinine avant, hyperlipasémie à 700UI/L (1), hépatite cytolitique et/ou mixte (6N) (24), épanchement périsplénique (1), cholestase (2), cholécystite lithiasique (1).

Grossesses et EI sous artésunate intraveineux (2) : Fausse couche spontanée (1), grossesse 32 SA (1).

Certains des effets secondaires rapportés sont déjà décrits avec l'AS (RCP Guillin). 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 se confirmer : celui de la survenue, rare, mais décrite 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.

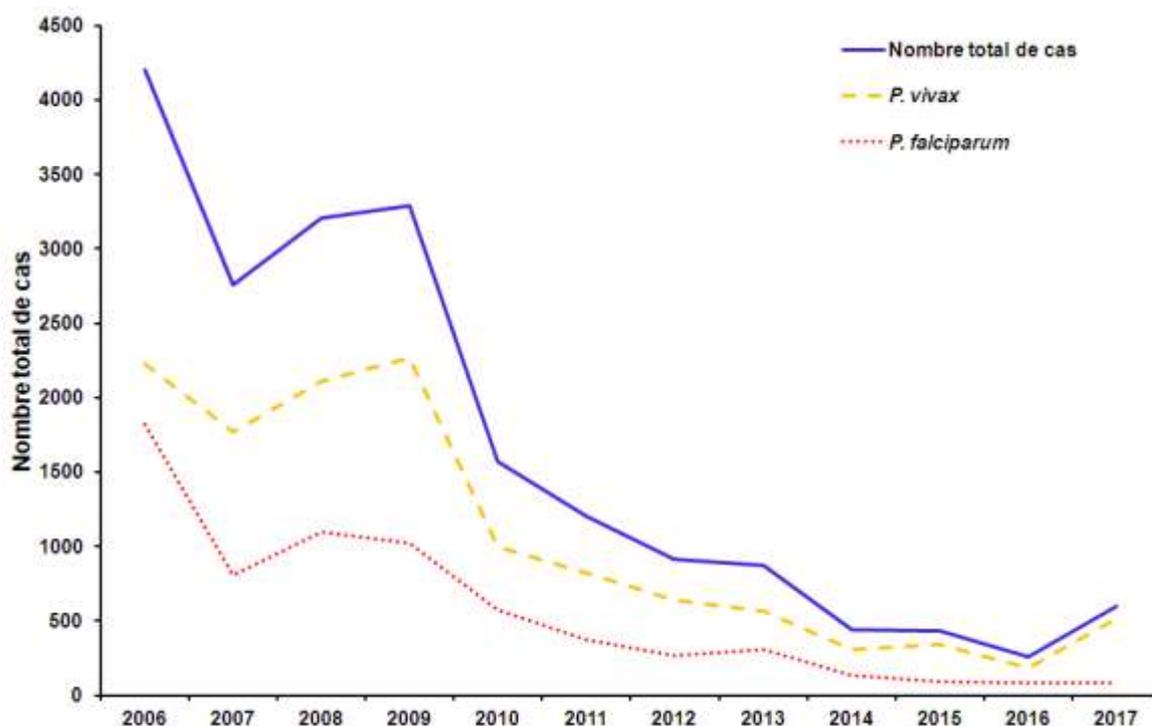
Bibliographie

1. Jaureguiberry S: **From quinine to artesunate, a rare exemple of therapeutic transition**. *La lettre de l'infectiologue* 2017, **XXIII**(5):192-194.
2. Jaureguiberry S, Thellier M, Ndour PA, Ader F, Roussel C, Sonnevile R, Mayaux J, Matheron S, Angoulvant A, Wyplosz B *et al*: **Delayed-onset hemolytic anemia in patients with travel-associated severe malaria treated with artesunate, france, 2011-2013**. *Emerg Infect Dis* 2015, **21**(5):804-812.
3. Jaureguiberry S, Ndour PA, Roussel C, Ader F, Safeukui I, Nguyen M, Biligui S, Ciceron L, Mouri O, Kendjo E *et al*: **Postartesunate delayed hemolysis is a predictable event related to the lifesaving effect of artemisinin**. *Blood* 2014, **124**(2):167-175.
4. Plewes K, Haider MS, Kingston HW, Yeo TW, Ghose A, Hossain MA, Dondorp AM, Turner GD, Anstey NM: **Severe falciparum malaria treated with artesunate complicated by delayed onset haemolysis and acute kidney injury**. *Malar J* 2015, **14**:246.

3.2.4. Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane

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, cf Figure 6). Cependant, quelques foyers de transmission sporadiques subsistent sur le littoral (Matoury, Kourou, Montsinery). L'année 2017 a été marquée par un très grand nombre de cas recensés dans la commune de Saint Georges de l'Oyapock et tout particulièrement dans deux de ses quartiers, Trois Palétuviers et Blondin. De ce fait, le nombre de cas à *P. vivax* est resté élevé. Cette espèce représentait en effet 86,4% des cas (515/597, Figure 25). Pour une présentation plus détaillée de données relatives à l'endémie palustre guyanaise, se référer aux publications de la Cire Guyane accessibles en ligne sur le site de Santé Publique France.



(Source Cire Guyane).

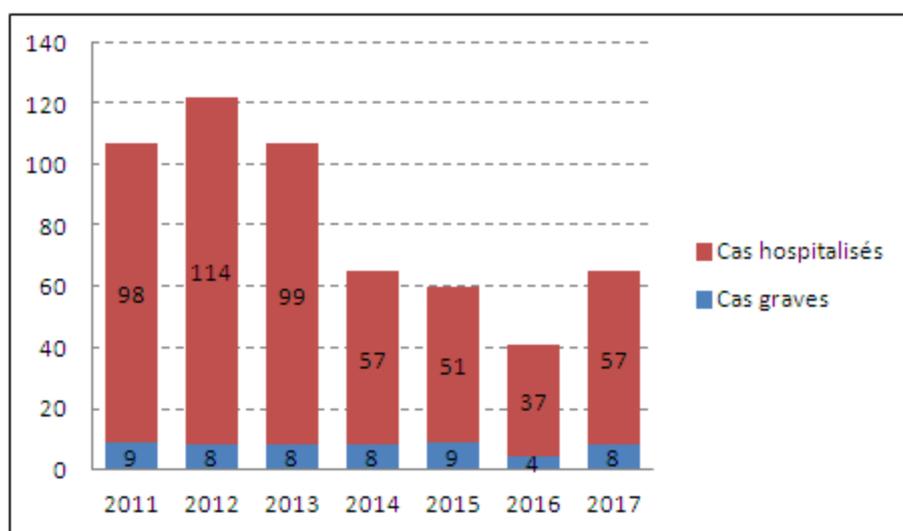
Figure 25. Evolution du nombre de cas déclarés de paludisme en Guyane entre 2006 et 2017.

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*.

En 2017, 57 patients ont été hospitalisés pour paludisme (33 au CHAR, 14 au CH de St Laurent du Maroni et 10 au Centre Médico-Chirurgical de Kourou). Huit patients ont présenté des signes d'accès grave à *P. falciparum* ou *P. vivax* parmi lesquels un a nécessité un séjour en réanimation. Aucun décès n'a été recensé (Figure 26).

Le nombre de patients hospitalisés et le nombre de cas grave en 2017 augmentent ce qui suit la tendance globale du nombre de cas recensés. Les cas hospitalisés représentaient 10% des cas déclarés sur la période.



(Source ARS Guyane/UMIT).

Figure 26. Evolution du nombre de cas grave et hospitalisés liés au paludisme en Guyane entre 2011 et 2017.

A Mayotte

Ces données sont publiées régulièrement par la Cire Océan Indien. Le dernier en date retraçant l'historique 1970-2016 est disponible à l'adresse suivante <http://invs.santepubliquefrance.fr/fr/Publications-et-outils/Points-epidemiologiques/Tous-les-numeros/Ocean-Indien/2018/Surveillance-du-paludisme-a-Mayotte.-Point-epidemiologique-au-29-janvier-2018..>

En 2017, 7 cas de paludisme d'importation à *P. falciparum* ont été déclarés au CNR Paludisme : 4 en provenance des Comores, 1 de Madagascar, 1 du Cameroun et 1 de Tanzanie.

Neuf cas de paludisme autochtones ont été déclarés, qui étaient probablement des cas induits.

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.

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

3.3.1. Chimiosensibilité de *P. falciparum* d'importation

3.3.1.1. Chimiosensibilité *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 diminution de sensibilité** consensus et propres à chacune des molécules sont:

- 100 nM pour la chloroquine (Dedet et al., 1988)
- 500 nM pour la quinine (Basco & Le Bras, 1994),
- 150 nM pour la luméfantrine (Pradines *et al.*, 1999),
- 12 nM pour la dihydro-artémisinine (Basco & Le Bras, 1993),
- 60 nM pour la pyronaridine (Pascual et al, 2015),
- 60 nM pour la monodéséthyl-amodiaquine (Ringwald *et al.*, 1998),
- 135 nM pour la pipéraquline (Pascual et al, 2015),
- 40 nM pour la méfloquine (Brasseur et al., 1990),
- 35 µM pour la doxycycline (Briolant et al., 2009).

En 2017, 393 tests *in vitro* de chimiosensibilité ont permis d'évaluer la sensibilité phénotypique des isolats de *P. falciparum* aux antipaludiques : chloroquine, amodiaquine, luméfantrine, pipéraquline, méfloquine, quinine, dy-hydroartémisinine, pyronaridine, doxycycline ; 50 tests de survie après exposition à la dihydro-artémisinine et à la pipéraquline ont été également réalisés.

• Chloroquine

Cinquante-six isolats ont montré une résistance à la chloroquine *in vitro* (14.3%). L'isolat sensible est donc majoritaire (Figure 27). Les isolats résistants provenaient majoritairement du Cameroun (17.9%), de Côte d'Ivoire (14.3%) et de Guinée (16%).

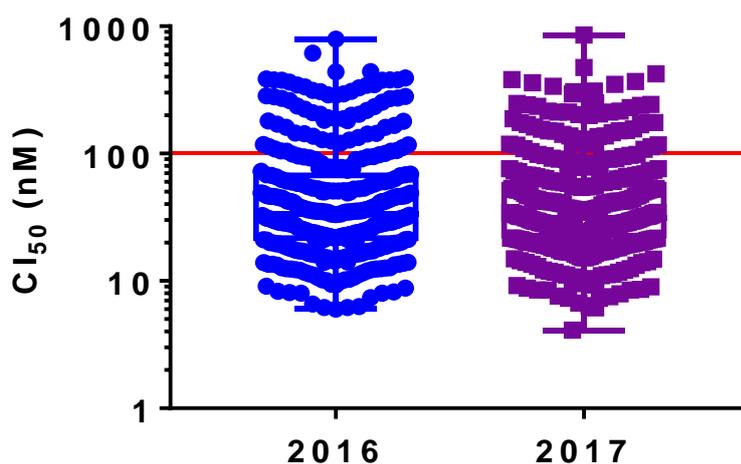


Figure 27 : Evolution des chimiosensibilités à la chloroquine en 2016 et 2017
2016 n : 361, 2017 n°393. La ligne rouge représente le seuil de résistance à 100 nM (Dedet et al., 1988).

- **Amodiaquine**

Onze isolats ont présenté une CI_{50} supérieure au seuil de résistance fixée à 60 nM (Figure 28) vis à vis de la mono-déséthyl-amodiaquine, métabolite actif de l'amodiaquine.

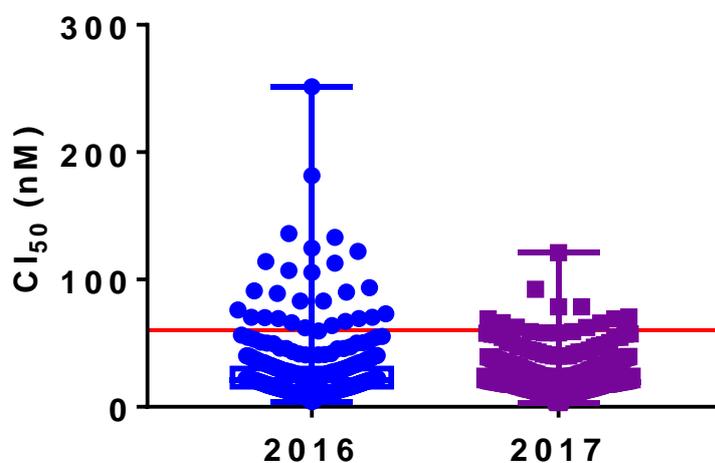


Figure 28 : Evolution des chimiosensibilités à la Mono déséthyl-amodiaquine en 2016 et 2017
2016 n : 361, 2017 n°:378. La ligne rouge représente le seuil de résistance de 60 nM (Ringwald et al., 1998).

- **Luméfántrine**

Les 369 isolats ont montré des CI_{50} comprises entre 0.5 nM et 84.4 nM, inférieures au seuil de résistance fixé à 150 nM (Figure 29).

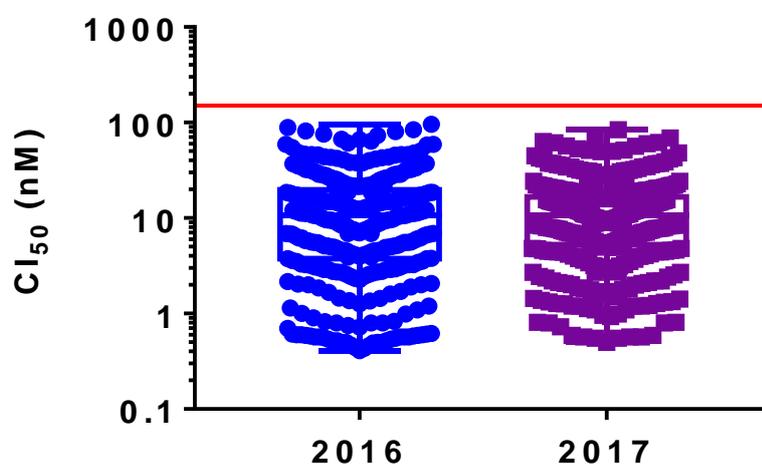


Figure 29 : Evolution des chimiosensibilités à la luméfántrine en 2016 et 2017
2016 n : 356, 2017 n° :369. La ligne rouge représente le seuil de résistance à 150 nM (Pradines et al., 1999).

- **Pipéraquline**

Les CI_{50} à la pipéraquline *in vitro* ont montré des valeurs comprises entre 1.8 nM et 96.4 nM (Figure 30).

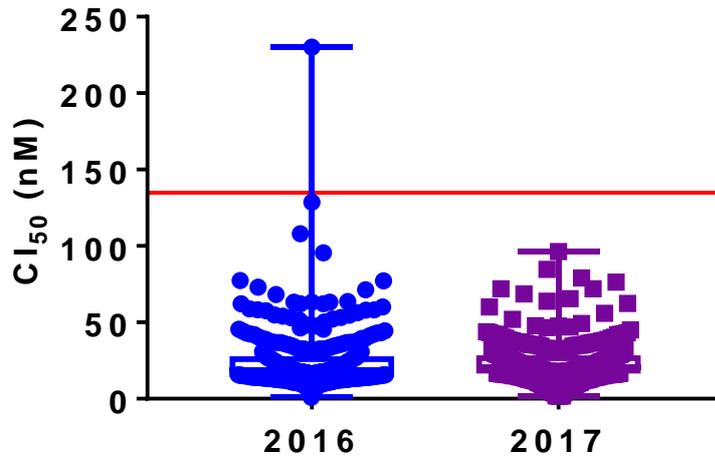


Figure 30 : Evolution des chimiosensibilités à la pipéraquline en 2016 et 2017
2016 n : 351, 2017 n° :372. La ligne rouge représente le seuil de résistance à 135 nM (Pascual et al, 2015).

- **Méfloquine**

Cent soixante-treize échantillons sur les 366 pour lesquels une CI_{50} vis à vis de cette molécule a été déterminé, ont montré une CI_{50} supérieure au 40 nM du seuil de résistance (47%) (Figure 31). Ces isolats provenaient principalement de Côte d'Ivoire (32.9%). L'absence de traitement par la méfloquine des patients chez lesquels ces isolats ont été mis en évidence, ne permet pas de corréler ces CI_{50} avec une diminution d'efficacité thérapeutique.

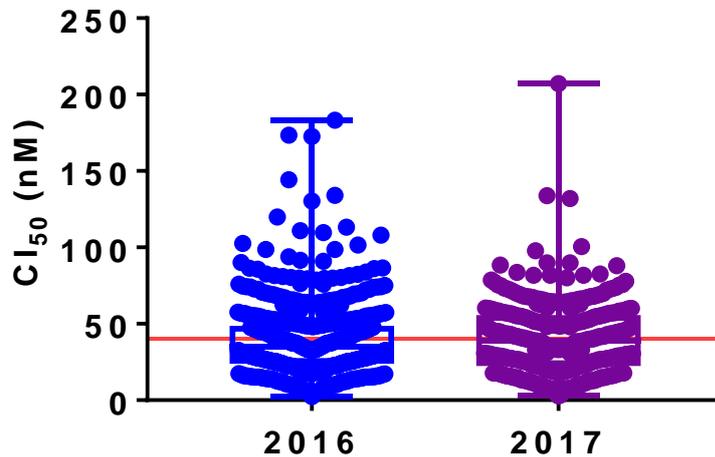


Figure 31 : Evolution des chimiosensibilités à la méfloquine en 2016 et 2017
2016 n : 361, 2017 n°:366 . La ligne rouge représente le seuil de résistance à 40 nM (Brasseur et al., 1990).

- **Quinine**

Nous avons disposé de 373 résultats de CI_{50} , seuls 5 isolats (1.34%) ont présenté des $CI_{50} > 500$ nM (Figure 32). Les isolats associés au paludisme d'importation restent sensibles à la quinine.

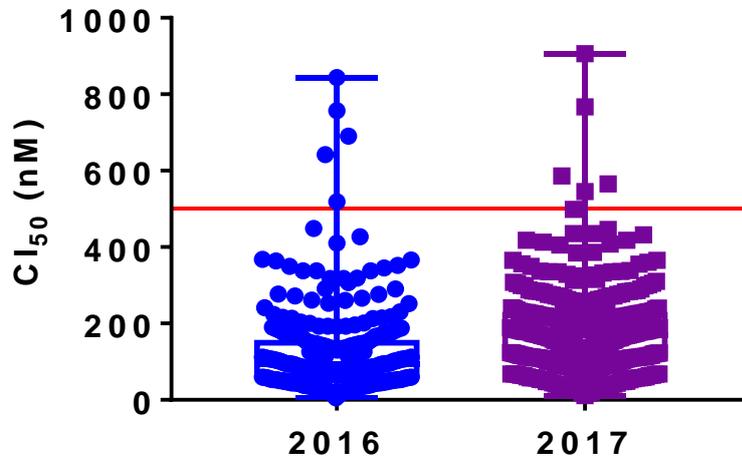


Figure 32 Evolution des chimiosensibilités à la quinine entre 2016 et 2017
2016 n : 358, 2017 n° :232. La ligne rouge représente le seuil de résistance à 500 nM (Basco and Le Bras, 1994).

- **La dihydroartémisinine**

Trois cent cinquante-huit isolats ont été analysés en 2017. Seuls 3 isolats provenant du Cameroun ont présenté une $CI_{50} > 12$ nM vis à vis de la di-hydro-artémisinine (DHA), métabolite actif des dérivés de l'artémisinine (Figure 33).

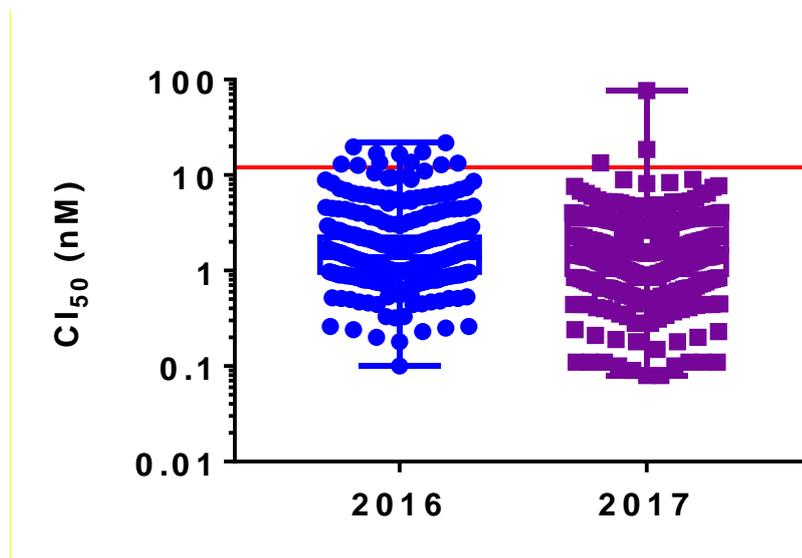


Figure 33 : Evolution des chimiosensibilités à la dihydroartémisinine en 2016 et 2017
2016 n :356, 2017 n°: 358. La ligne rouge représente le seuil de résistance à 12 nM (Basco & Le Bras, 1993).

- **Pyronaridine**

Les CI_{50} de la pyronaridine étaient comprises entre 1.20 nM et 83.20 nM. Sur les 188 échantillons analysés, uniquement six présentaient une CI_{50} > 60 nM, seuil de résistance (Figure 34).

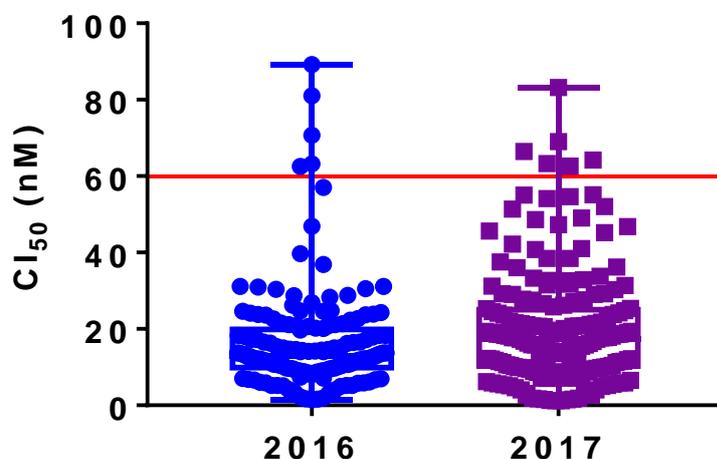


Figure 34 : Evolution des chimiosensibilités à la pyronaridine en 2016 et 2017
2016 n : 154, 2017 n° :188. La ligne rouge représente le seuil de résistance à 60 nM (Pascual et al, 2015).

- **Doxycycline**

Les 232 isolats ont montré une CI_{50} comprise entre 1.49 et 51.8 μ MM en 2017. Vingt-huit échantillons (12%) présentent une CI_{50} supérieure au seuil de résistance (35 μ M) principalement en provenance du Cameroun (21.4%) (Figure 35).

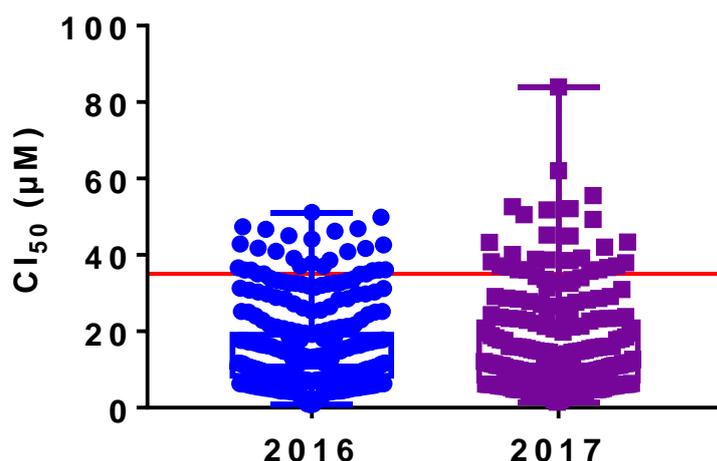


Figure 35 Evolution des chimiosensibilités à la doxycycline en 2016 et 2017
2016 n :313, 2017 n° : 232. La ligne rouge représente le seuil de résistance à 35nM (Briolant et al., 2009).

• **Evolution des phénotypes en 2017**

En 2017, les isolats importés de *P. falciparum* ont montré une sensibilité *in vitro* conservée vis à vis des molécules recommandées comme première ligne de traitement en France comme l'association artémether-luméfantine ou l'association artéménone (DHA)-pipéraquline. On confirme la diminution de la proportion de souches résistantes à la chloroquine, suite à la diminution de son utilisation en zone d'endémie. Parmi les molécules recommandées en prophylaxie, l'augmentation de la proportion des souches dont la sensibilité à la doxycycline et surtout à la méfloquine sont diminuées, doit être surveillée avec attention. L'absence d'échec prophylactique vrai associé à ses souches ne permet pas de corréliser cette observation *in vitro* à une diminution d'efficacité *in vivo*, les seuils de résistance admis n'étant que des seuils épidémiologiques.

3.3.1.2. Génotypage des isolats

En 2017, 1661 isolats de *P. falciparum* prélevés lors du diagnostic à J0 ont été évalués pour au moins un marqueur moléculaire de résistance.

3.3.1.2.1. La mutation 76 du gène *pfcr1* : résistance à la chloroquine

En 2017, parmi les 942 isolats génotypés pour *pfcr1*, la proportion d'isolats sauvages *pfcr1*76 est de 71,6% (66,3 en 2016, 64,7% en 2015, 59,9% en 2014, 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 2017 une poursuite de la tendance observée les années précédentes avec une diminution de la proportion de souches résistantes à la chloroquine.

La proportion d'isolats sauvages et mutés pour chaque pays est présentée dans le Tableau 18. Le Bénin (79,2%), le Congo (54,2%), le Congo RDC (50,0%), la Guinée (71,4%) et le Sénégal (62,5%) présentent encore de fortes proportions d'isolats mutés.

Tableau 18 : Proportion d'isolats mutés *pfcr1* K76T par pays et par année

Pays	2014		2015		2016		2017	
	Nb	% mutés	Nb	% mutés	Nb	% mutés	Nb	% mutés
Afrique								
Angola	9	44.5	10	50	6	50	6	50
Bénin	19	52.6	38	61	13	69.2	24	79,2
Burkina Faso	48	12.5	59	3	14	14.3	20	15,0
Burundi							2	100
Cameroun	217	46.1	299	35	132	26.5	204	18,1
RCA	54	11.1	61	7	33	9.1	39	2.6
Comores					6	33.3	7	14,3
Congo	44	75	65	68	63	63.5	24	54.2
Congo RDC	20	75	16	56	10	70	4	50
Côte d'Ivoire	297	29.3	388	23	120	18.3	284	17,6
Djibouti							2	50
Ethiopie	3	100					1	0
Gabon	40	62.5	30	77	28	50	30	40
Ghana	9	22.2	14	17	2	50	7	0
Guinée	51	62.7	46	65	26	69.2	70	71,4
Guinée Equat	3	33.4	9	13	1	100	4	50
Kenya			2	0	1	0	2	50
Madagascar	3	0	13	10	3	66	3	33.3

Malawi			1	0			1	0
Maroc							1	0
Mali	130	50	179	54	19	33	54	35,2
Mozambique			2	0	1	0	4	0
Niger	4	50.0	6	66	4	0	11	27,3
Nigeria	16	75	16	66	14	21.4	24	45,8
Rwanda			4	25	1	100	1	0
Sénégal	38	47.4	90	38	8	37.5	24	62,5
Sierra Leone	4	50	3	100			4	25
Soudan	2	0	4	100			1	0
Tanzanie			2	0			4	0
Tchad	20	30	34	24	1	100	14	21,4
Togo	45	37.8	16	10	20	25	19	14,0
Amériques								
Pérou							1	100
Autre								
Thaïlande							1	100

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

Un des 420 isolats genotypés prélevés à J0 est muté (Cys, 2017TRS0025) dès J0 : ce cas est décrit dans les échecs thérapeutiques à l'atovaquone-proguanil. Nous ne disposons pas de données sur une prise précédente d'atovaquone-proguanil, qui reste l'hypothèse la plus probable.

Deux prélèvements (2017CMF0012 et 2017RMS0015) sont sauvages à J0 et mutés (Cys) lors de l'échec thérapeutique. Trois autres sont mutés lors de l'échec (Ser) mais nous ne disposons pas de l'échantillon J0, pour expertiser ces dossiers.

3.3.1.2.3. Nombre de copies du gène *pfmdr1* : résistance à la méfloquine et à la luméfántrine

En 2017, 769 isolats ont été évalués pour leur nombre de copies du gène *pfmdr1*. 68,2% présentent une seule copie du gène *pfmdr1*, 20,2% ont 2 copies et 13,0% ont plus de 2 copies, suggérant que 33,2% des isolats sont de sensibilité diminuée à la méfloquine.

3.3.1.2.4. La mutation du gène *pfmdr1* : résistance à la méfloquine et à la luméfántrine

En 2017, parmi les 799 isolats genotypés pour le gène *pfmdr1*, la proportion d'isolats sauvages *pfmdr1* 86 est de 93,0%

La proportion d'isolats mutés *pfmdr1* N86Y pour chaque pays et par année depuis 2014 est présentée dans le Tableau 19. Aucun pays n'a une proportion d'isolats mutés *pfmdr1* N86Y supérieure à 50%.

Tableau 19 : Proportion d'isolats mutés *pfmdr1* N86Y par pays et par année

Pays	2014		2015		2016		2017	
	Nb	% mutés						
Afrique								
Angola	12	0	10	0	10	0	6	0
Bénin	17	17.6	38	17	16	12.5	24	4,2
Burkina Faso	41	12.2	59	3	30	66.7	19	0
Burundi							2	0

Cameroun	126	23	299	29	173	13.9	168	11,3
RCA	42	2.4	61	6	40	0	32	3,1
Comores					7	57.1	10	0
Congo	16	37.5	65	27	71	15.5	28	14.3
Congo RDC	6	0	16	33	17	11.8	3	0
Côte d'Ivoire	282	8.2	388	6	178	9.6	219	4,6
Ethiopie							1	0
Djibouti							2	0
Gabon	24	16.7	30	25	30	30	33	3,0
Gambie					1	0	1	0
Ghana	7	0	14	0	6	0	5	0
Guinée	37	8.1	46	8	42	11.9	59	10,2
Guinée Equat	3	0	9	17	2	50	2	0
Madagascar	1	0	13	33	4	25	3	33,3
Malawi							1	0
Mali	119	13.4	179	10	49	14.3	46	10,9
Maroc							1	0
Mozambique			0	0	1	0	4	0
Niger	3	0	6	33	9	22.2	8	12,5
Nigeria	16	18.8	16	0	16	18.9	22	0
Rwanda			4	0	1	0	1	0
Sénégal	36	5.6	90	8	27	7.4	19	10,5
Sierra Leone	2	0	3	0	1	0	6	16,7
Tanzanie			2	0	1	0	2	0
Tchad	18	11.1	34	7	9	22.2	12	8,3
Togo	39	8	16	11	30	13.3	25	4,0
Amériques								
Colombie							1	0
Pérou							1	100
Asie								
Thaïlande							1	0
Autre								
Arabie Saoudite							1	0

Parmi les 768 isolats testés pour le codon 184, 58,2% sont mutés (Phe).

Aucun échantillon n'est muté en 1034, ni en 1042.

Parmi les 1091 isolats génotypés pour le codon 1246, 10 sont mutés (9.2%) dont quatre proviennent de Côte d'Ivoire, 3 de Guinée, 1 du Bénin, 1 du Congo et 1 du Cameroun. L'haplotype sauvage en 86, muté en 184 et muté en 1246 est prédictif d'une résistance à l'artéméther-luméfantrine.

3.3.1.2.5. Les mutations du gène *pf dhfr* : résistance aux antifoliniques

En 2017, la proportion d'isolats mutés *pf dhfr S108N* est de 91,3% (92,8% en 2016, 90,1 en 2015, 80,1% en 2013, 81,1% en 2012, 86,6% en 2011, 81% en 2010, 80% en 2009, 81% en 2008). Les proportions d'isolats sont relativement stables et élevées depuis 2008 (> 80%) avec 83,5% de triple mutations (S108N, N51L et C59R).

La proportion d'isolats triple mutés *pf dhfr S108N, N51L, C59R* pour chaque pays et par année depuis 2013 est présentée dans le **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** Cette proportion reste très élevée.

Seuls les échantillons en provenance des Comores présentent une proportion de souches avec moins de 50% de triple mutés *dhfr*.

Tableau 20 : Proportion d'isolats triple mutés *pf_{dhfr} S108N, N51I, C59R* par pays et par année

Pays	2013		2015		2016		2017	
	Nb	% mutés	Nb	% mutés	Nb	% mutés	Nb	% mutés
Afrique								
Angola			10	100	5	100	2	50
Bénin	2	100	38	93	6	83.3	12	91,7
Burkina Faso	9	56.6	59	57	18	77.8	8	62,5
Burundi							2	100
Cameroun	39	97.4	299	96	12	66.7	133	94,7
RCA	4	100	61	91	37	89.2	27	81,5
Comores					2	50	7	28,6
Congo	11	72.7	65	94	42	95.2	19	89,5
Congo RDC	3	100	16	100	8	100	4	100
Côte d'Ivoire	62	71	388	70	109	73.3	155	70,3
Djibouti							1	0
Ethiopie							1	100
Gabon	3	100	30	100	29	82.8	21	76,2
Ghana			14	71	6	83.3	5	60,0
Guinée	16	87.5	46	91	38	84.2	33	97,0
Kenya	1	100			2	100	1	100
Libéria							1	100
Madagascar	12	33.3	13	66	2	50	2	100
Malawi							1	100
Mali	22	63.6	179	77	17	81.0	14	85,7
Maroc							1	100
Mozambique			2	100	1	100	5	100
Niger			6	100	6	83.3	8	75
Nigeria	1	100	16	83	11	100	10	83,3
Sénégal	13	76.9	90	82	18	77.8	13	76,9
Sierra Leone			3	100	1	100	3	100
Soudan			4	0	1	100	1	100
Tanzanie							3	66,7
Tchad	2	100	34	93	3	66.7	10	90
Togo	3	100	16	70	17	88.2	13	69,2
Autre								
Arabie Saoudite							1	100
Thaïlande							1	100

3.3.1.2.6. Polymorphisme du gène K13-propeller

En 2017, le gène K13 a été séquencé chez 1455 isolats. Aucune mutation n'a été identifiée ni sur le codon 580, ni sur le codon 539. Trois échantillons arborent une mutation sur le codon 476 (Met/Leu) pouvant être associée à une résistance vis-à-vis des dérivés d'artémisinine. Cependant, ces trois patients ont été traités par l'association atovaquone-proguanil.

3.3.1.2.7. Evolution des génotypes en 2017

Au cours de ces dernières années, la proportion d'isolats sauvages pour la mutation *pfprt76* a progressé passant de 35,4% en 2006 à 71,6% en 2017. 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 luméfántrine. Lorsqu'il est associé au génotype muté en 184 et 1246, cet haplotype est prédictif d'une résistance à l'artéméthérum-luméfántrine.

33,2% des échantillons possèdent au moins 2 copies du gène *pfmdr1*, suggérant une diminution de sensibilité à la méfloquine.

83,5% des isolats sont mutés sur *pfdhfr* (S108N, N51I, C59R) impliquant une résistance élevée à la pyriméthamine ou au proguanil.

Les mutations du gène K13 impliqués dans la résistance aux dérivés de l'artémisinine en Asie du Sud-est ne sont pas détectées sur les souches africaines.

3.3.2. Surveillance des résistances de *P. falciparum* aux antipaludiques en Guyane

3.3.2.1. Chimiosensibilités

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

- 800nM pour la quinine (Basco & Le Bras, 1994),
- 35 µM pour la doxycycline (Briolant *et al.*, 2009),
- 12nM pour l'artéméthérum (Basco & Le Bras, 1993),
- 150nM pour la luméfántrine (Pradines *et al.*, 1999),
- 6nM pour la dihydro-artémisinine (Basco & Le Bras, 1993),
- 80nM pour la pipéraquline (Basco & Ringwald, 2003),
- 6nM pour la pyronaridine (Basco & Le Bras, 1992),
- 30nM pour la méfloquine (Brasseur *et al.*, 1990),
- 60nM pour la monodéséthyl-amodiaquine (Ringwald *et al.*, 1998).

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. Ainsi, depuis 2014, nous ne distinguons plus les valeurs obtenues avant et après adaptation. Pour un isolat, la valeur considérée est : 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% CO₂, 10% d'O₂ alors que jusque là, ces derniers étaient incubés en jarre à bougie soit 2,7% de CO₂ et 17,5% d'O₂. 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 CI₅₀ 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 l'année précédente (Figure 36), 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^{ème} 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 Turkey 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 CI₅₀ résistant/CI₅₀ 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 CI₅₀ des isolats déterminées après une culture *in vitro* d'environ 30 jours, les grises les CI₅₀ de J0,

- La boîte est délimitée par la valeur du 1^{er} quartile (Q₁) de la distribution pour le trait inférieur et celle du 3^{ème} quartile (Q₃) 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[®] 12 (Statacorp) et Excel[®] (Microsoft) ont été utilisés pour générer ces graphiques.

En 2017, le profil de résistance à onze molécules de *P. falciparum* a été déterminé selon la technique du semi-microtest isotopique. Parmi les 56 prélèvements de *P. falciparum* reçu en 2017 (incluant les deux isolats présentant une infection mixte *falci/vivax*), le LA-ZE a pu évaluer la chimiosensibilité de 34 isolats à la réception ou après une mise en culture. Ce nombre d'isolats caractérisés est variable en fonction des

molécules et de la proportion de tests interprétables. Les isolats qui n'ont pas pu être caractérisés en 2017 faute de temps le seront en 2018 après décongélation.

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



Figure 36. Niveau de sensibilité *in vitro* de *P. falciparum* envers dix molécules testées en 2017 en comparaison avec les données antérieures disponibles.

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]	82,79 [15,22 ; 932,05]	
Proportion de résistants	38,2%	
Seuil de résistance	100nM, niveau intermédiaire : 80-100nM (Dedet et al., 1988)	

Le niveau de sensibilité à la chloroquine reste stable (Figure 37). Ces nouveaux isolats sensibles présentent la particularité de posséder un génotype *pfcr1* résistant avec la présence notamment de la mutation K76T mais également la mutation responsable de la réversion de cette résistance C350R spécifique du plateau des Guyanes. Cette réversion de la résistance par acquisition d'une nouvelle mutation est une première mondiale qui a été publiée par le laboratoire en 2015.⁵ Ce retour de la sensibilité est peut être sélectionné grâce à un avantage sélectif vis-à-vis d'autres molécules car il n'y a plus de pression médicamenteuse de cette molécule sur *P. falciparum*.

ATOVAQUONE		
Dates et points clés en Guyane	1995	2 ^{ème} ligne thérapeutique des accès simples ou de la femme enceinte à <i>P. falciparum</i> en association avec le proguanil (Malarone®),
	2002	Recommandée en prophylaxie chez les plus de 40kg et la femme enceinte en association avec le proguanil (Malarone®).
Médiane [min ; max]	0,37 [0,08 ; 1,56]	
Proportion de résistants	0%	
Seuil de résistance	400nM (Savini et al., 2008)	

Aucun isolat résistant identifié en 2017 (Figure 37), pas plus grâce au génotypage du *pfcytb* de 57 isolats. Cette molécule en association avec la proguanil reste donc efficace en Guyane.

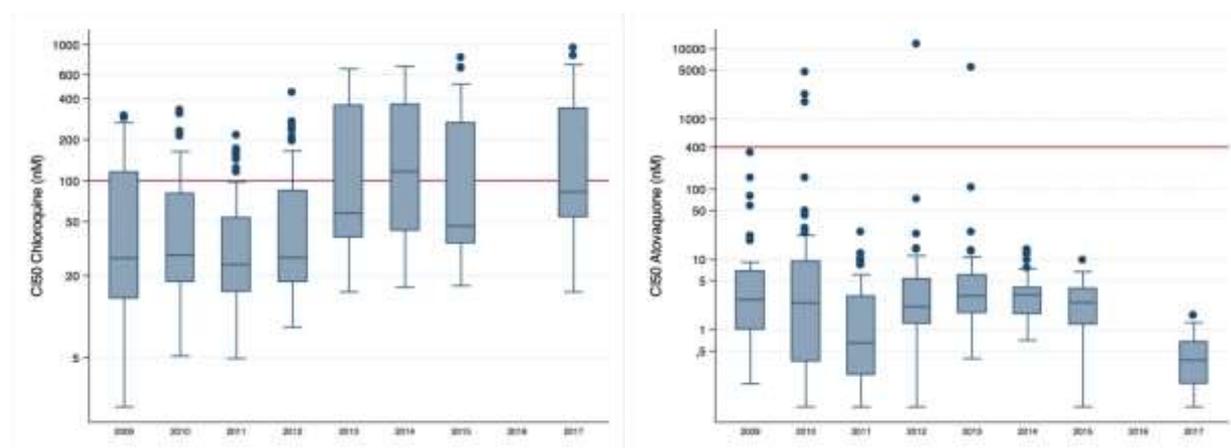


Figure 37. Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2017 : chloroquine (gauche), atovaquone (droite).

La ligne rouge représente le seuil de résistance. Les effectifs sont indiqués entre parenthèses.

⁵ Pelleau S, Moss EL, Dhingra SK, Volney B, Casteras J, et al. (2015) Adaptive evolution of malaria parasites in French Guiana: Reversal of chloroquine resistance by acquisition of a mutation in *pfcr1*. Proc Natl Acad Sci U S A.

QUININE		
Dates et points clés en Guyane	1995	1 ^{ère} 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 ^{ème} ligne des accès simples,
Médiane [min ; max]		214,29 [77,14 ; 580,70]
Proportion d'isolats de sens. diminuée		0,00%
Seuil de diminution de sensibilité		800nM (Basco and Le Bras, 1994)

Aucun isolat de sensibilité diminuée à la quinine n'a été observé cette année pas plus qu'en 2016 (Figure 38).

DOXYCYCLINE		
Dates et points clés en Guyane	1995	1 ^{ère} 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 ^{ème} 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]		10,88 [3,75 ; 17,69]
Proportion d'isolats de sens. diminuée		0,00%
Seuil de diminution de sensibilité		Seuil de diminution de sensibilité : 35µM (Briolant et al., 2009)

Aucun isolat de sensibilité diminuée à la quinine n'a été observé cette année pas plus qu'en 2015 (Figure 38). Cette molécule n'a pas été testée en 2016, année où seules six molécules, les plus importantes en thérapeutique, avaient été étudiées.

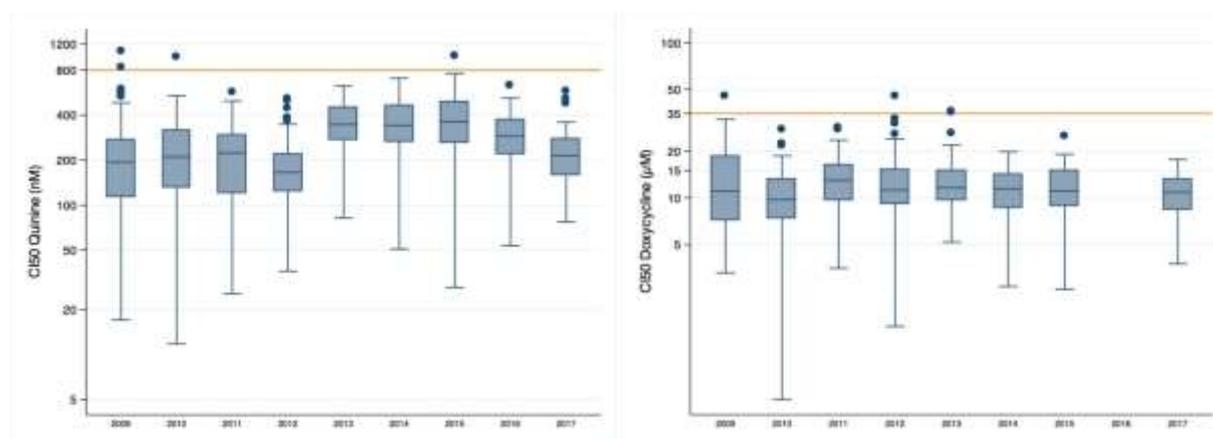


Figure 38. Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2017 : quinine (gauche), doxycycline (droite).
La ligne orange représente le seuil de diminution de sensibilité. Les effectifs sont indiqués entre parenthèses.

Alors qu'en Asie du Sud Est le test *in vitro* isotopique classiques ne permet pas d'identifier les parasites de sensibilité diminuée aux artémisinines, nous avons fait le choix de présenter tout de même les résultats que nous avons obtenu afin de voir si une tendance se dégage au-delà des seuils d'interprétation. Ces derniers sont suivis des résultats issus des tests de survie, plus informatifs.

DIHYDROARTEMISININE		
Dates et points clés en Guyane	Site orpaillage	Métabolite actif de l'artémisinine entrant dans la composition de l'Artecom [®] , une spécialité régulièrement retrouvée sur les sites d'orpaillage clandestin en Guyane. Cette association regroupe trois molécules, dihydroartémisinine, pipéraquline, triméthoprime.
	2011	La spécialité Eurartésim [®] , association de dihydroartémisinine et de pipéraquline, est mise sur le marché en France. En Guyane, elle est utilisée par les militaires pour traiter leurs accès à <i>P. falciparum</i> .
Médiane [min ; max]		3,91 [1,25 ; 8,81]
Proportion d'isolats de sens. diminuée		14,71%
Seuil de diminution de sensibilité		6nM (Basco & Le Bras, 1993)

En 2017, 5 isolats de sensibilité diminuée ont été observés avec des valeurs comprises entre 7,01 et 8,81nM (Figure 39). Attention une erreur c'est glissée dans le graphe qui ne représente par le seuil à la bonne valeur (6nM normalement).

ARTEMETHER		
Dates et points clés	2007	1 ^{ère} ligne thérapeutique des accès simples à <i>P. falciparum</i> en association avec la luméfántrine sous la spécialité Riamet [®] , (idem au Brésil depuis 2008 = Coartem [®] ; et au Suriname depuis 2003).
Médiane [min ; max]		8,02 [1,30 ; 26,10]
Proportion d'isolats de sens. diminuée		32,35%
Seuil de diminution de sensibilité		12nM (Pradines et al., 1999)

En 2017, 11 isolats de sensibilité diminuée ont été observés. Les valeurs sont généralement situées autour du seuil de diminution de sensibilité mise à part trois valeurs à 15,89nM, 17,88nM et 26,10nM. Elles sont associées respectivement à : un patient de 40 ans hospitalisé pour un accès grave et traité par artésunate IV sans suites particulières, un homme de 57 ans revenant du Nigéria qui a été traité par artéméther-luméfántrine avec succès, suivi jusqu'à J31 après le début du traitement (CI₅₀ DHA = 7,07nM) et un orpailleur de 47 ans traité également par artéméther-luméfántrine mais non suivi (CI₅₀ DHA = 8,81nM). Le génotypage *pfK13* n'a rien montré de particulier pour ces trois isolats.

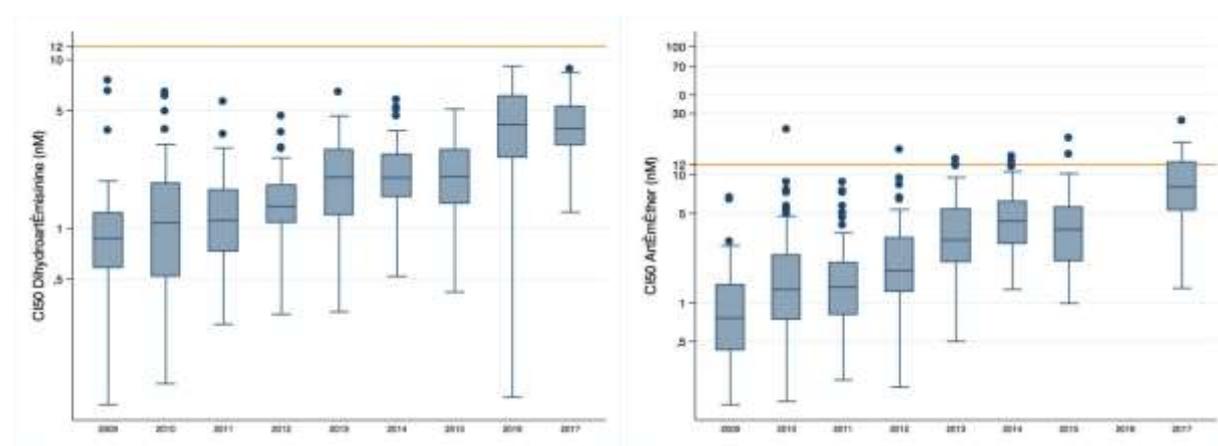


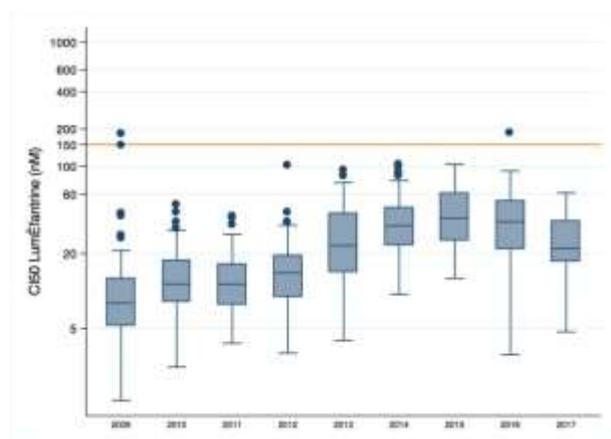
Figure 39. Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2017 : dihydroartémisinine (gauche), artéméther (droite). La ligne orange représente le seuil de diminution de sensibilité. Les effectifs sont indiqués entre parenthèses.

LUMEFANTRINE		
Dates et points clés	2007	1 ^{ère} ligne thérapeutique des accès simples à <i>P. falciparum</i> en association avec l'artéméther (Riamet®), idem au Brésil (Coartem®) depuis 2008 et au Suriname depuis 2003.
Médiane [min ; max]		22,02 [4,69 ; 61,24]
Proportion d'isolats de sens. diminuée		0,00%
Seuil de diminution de sensibilité		150nM (Pradines et al., 1999)

Aucune sensibilité diminuée n'a été identifiée en 2017 (Figure 40).

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.
	Brazil, Suriname	2 ^{ème} ligne thérapeutique des accès simples à <i>P. falciparum</i> en association avec l'artésunate.
Médiane [min ; max]		7,53 [1,53 ; 40,15]
Proportion d'isolats de sens. diminuée		0,00%
Seuil de diminution de sensibilité		30 nM (Brasseur et al., 1990)

Un isolat de sensibilité diminuée a été observé toujours chez ce patient revenant du Nigeria et pour lequel des CI_{50} élevées avaient déjà été observées pour la dihydroartémisinine et l'artéméther. La méfloquine n'est quasiment plus utilisée en Guyane, peut être certain voyageur prenant du Lariam®. Le nombre de copie du gène *pfdm1* en lien avec la résistance n'est plus étudié mais la majorité (97,5%, n=162) des isolats étaient monocopie en 2010 dernière année de l'étude de ce gène.



Graphique non disponible au moment de la rédaction

Figure 40. Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2017 : luméfantine (gauche), méfloquine (droite).

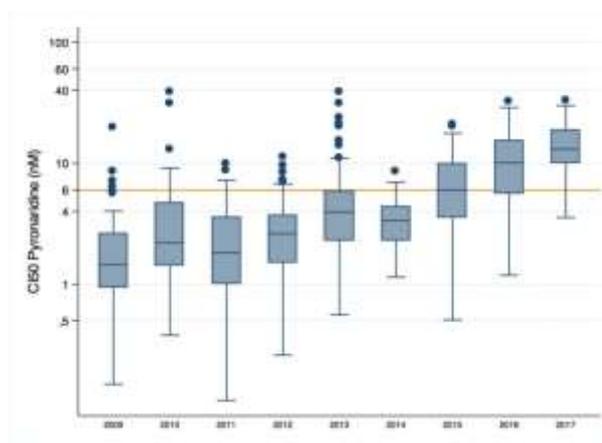
La ligne orange représente le seuil de diminution de sensibilité. Les effectifs sont indiqués entre parenthèses.

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> . Pas d'utilisation en France en général.
Médiane [min ; max]	44,47 [12,64 ; 285,82]
Proportion d'isolats de sens. diminuée	42,42%
Seuil de diminution de sensibilité	60 nM (Ringwald et al., 1998)

Si l'on compare les sensibilités à celles de la chloroquine, 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®), pour les traitements des accès palustres à <i>P. falciparum</i> en Asie du sud est.
Médiane [min ; max]	13,11 [3,56 ; 32,98]
Proportion d'isolats de sens. diminuée	87,88%
Seuil de diminution de sensibilité	6 nM (Basco & Le Bras, 1992)

Une tendance nette à la diminution peut être observée concernant cette molécule alors même qu'elle n'est pas utilisée dans la région. Le seuil de diminution de sensibilité a été défini sur la base de méthodes statistiques, est-il vraiment informatif ? Peut être faudrait-il le revoir. Toujours est-il qu'une tendance est observée alors même que les contrôles qualité au sein du laboratoire sont conformes.



Graphe non disponible au moment de la rédaction

Figure 41. Evolution des chimiosensibilités entre 2009 et 2017 : monodéséthyl-amodiaquine (gauche), pyronaridine (droite).

La ligne orange représente le seuil de diminution de sensibilité. Les effectifs sont indiqués entre parenthèses.

3.3.2.2. Génotypage des isolats

En 2017, le LA-ZE 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 région propeller du gène *pfK13*.

Aucune mutation sur le codon 268 du gène *pfcytb* conférant la résistance à l'atovaquone/proguanil (Malarone®) n'a été observée chez les 57 isolats étudiés pas plus que dans leur partie propeller du gène *pfK13*.

3.3.3. Surveillance des résistances de *P. falciparum* aux antipaludiques à Mayotte

Les données du paludisme d'importation à Mayotte (7 isolats) ont été analysées avec les données du paludisme d'importation en France. Seuls les isolats de paludisme autochtone (9 échantillons) sont présentés dans ce paragraphe.

En raison de l'éloignement géographique et des contraintes de transport et d'acheminement, seuls les génotypages ont été réalisés.

En 2017, un seul isolat est muté sur le codon 76 du gène *pfcr1* (11,1%), suggérant une sensibilité importante à la chloroquine (pour rappel, 14,3% aux Comores).

Sept isolats (77,8%) sont mutés sur le codon 86 du gène *pfmdr1* (0% aux Comores). Aucune mutation sur les codons 184, 1034, 1042 et 1246.

Aucun des isolats collectés en 2017 ne présente de mutation sur le gène K13.

3.4. Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

3.4.1. Contribution à la surveillance du paludisme d'importation

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).

3.4.2. Contribution à la surveillance du paludisme endémique

Les interactions SPF/Pôle Zones Endémiques s'effectuent par l'intermédiaire du bureau en région, la Cire Guyane ou plus rarement directement avec le département des maladies infectieuses. 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 SPF. 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 Pôle Zones Endémiques auprès de la PVAGS et de SPF 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 Guyane publie une analyse des données épidémiologiques collectées en Guyane sous forme d'un Point Epidémiologique Périodique (PEP) ou, annuellement dans le Bulletin de Veille Sanitaire (BVS).

3.4.3. Contribution à la surveillance internationale en tant que Centre Collaborateur de l'OMS pour la surveillance des résistances aux antipaludiques qu'est le laboratoire de parasitologie

Depuis 2014, le laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de la Guyane est Centre Collaborateur de l'OMS pour la surveillance des résistances aux antipaludiques. A ce titre, le laboratoire intervient dans la surveillance des résistances et de la pertinence des outils diagnostics sur le plateau des Guyanes et en Amazonie en général. Les échanges sont ainsi réguliers avec les Ministères de la santé des pays concernés, le bureau en charge du paludisme de la PAHO basé à Washington DC et le programme global de lutte contre le paludisme de l'OMS basé à Genève.

Par ailleurs, le laboratoire reste membre du réseau RAVREDA regroupant l'ensemble des pays endémique des Amériques. Des réunions sont régulièrement organisées dans ce cadre ou dans des cadres plus restreint en fonction de l'actualité du paludisme dans la zone. Ainsi en mai 2017, une réunion a été organisée à Lima au Pérou traitant de l'élimination de *P. falciparum* aux Amériques : traitement, diagnostic et surveillance.

Le Pôle Zones Endémiques a effectué une présentation orale sur les marqueurs moléculaires de résistance.

3.5. Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

3.5.1. Prévalence des délétions des gènes *pfhrp2* et *pfhrp3* chez *Plasmodium falciparum* sur le plateau des Guyanes.

Porteurs et participants au projet: L. Musset – L. Berthelot

Collaborations: Ministère de la santé du Guyana
Ministère de la santé du Venezuela
Organisation Panaméricaine de la santé

Depuis 2009, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande de confirmer rapidement toute suspicion de cas de paludisme avant de délivrer un traitement antipaludique adapté en procédant à un diagnostic de certitude basé sur la recherche des plasmodies par microscopie ou test de diagnostic rapide (TDR) avant d'administrer un traitement antipaludique adapté. Cette recommandation a conduit à un essor des TDR qui sont devenus des outils diagnostic de choix dans les zones reculées aux infrastructures limitées. Ces TDR permettent entre autre la détection de *Plasmodium falciparum* par la recherche de la protéine2-riche en histidine (Pf-HRP2). Des parasites délétés pour le gène *pfhrp2*, qui code cette protéine, ont cependant été décrits en Amazonie. Le risque est alors d'étiqueter à tort un accès à *P. falciparum* comme un accès à *P. vivax* et de le traiter par chloroquine alors que sur le plateau des Guyanes, 20 à 30% des parasites sont chloroquino-résistants. En raison des flux migratoires et de la place des TDR dans cette région, une surveillance accrue de ces délétions est nécessaire. Ainsi, des isolats collectés entre 2015 et 2017 en Guyane, au Guyana et au Venezuela ont été étudiés selon les recommandations de l'OMS afin d'estimer la prévalence des délétions au niveau des gènes *pfhrp2/3*. Huit PCR analysant les deux parties, jonction exon 1-2 et exon 2, des gènes *pfhrp2* et *pfhrp3* et leurs gènes adjacents ont ainsi été utilisées. Le protocole d'étude comprenait également une PCR en temps réel comme méthode semi-quantitative permettant d'évaluer la quantité et la qualité de l'ADN des isolats étudiés afin de sélectionner les échantillons analysables. Un total de 690 isolats a été étudié. Au Venezuela, 39% (IC95 [28,1 – 49,9]) des parasites présentaient une délétion au niveau du gène *pfhrp3* et 2,6% (IC95 [0 – 6,8]) au niveau de *pfhrp2*. Au Guyana (n=265) et en Guyane (n=230), aucun parasite délété pour le gène *pfhrp2* n'a été mis en évidence et respectivement 3,0% IC95 [0,9% - 5,1%] et 0,5% IC95 [0 – 1,5] pour le gène *pfhrp3*. Ces données robustes mettent pour la première fois en évidence des isolats délétés pour le gène *pfhrp2* au Venezuela et confirme leur absence en Guyane et au Guyana. Par conséquent, la surveillance reste de mise au Venezuela mais les TDR basés sur Pf-HRP2 restent des outils diagnostic adaptés dans ces pays.

3.5.2. Prévalence du paludisme hétérogène sur la commune de St Georges de l'Oyapock.

Porteurs et participants au projet: E. Mosnier -O. Moriceau, L. Musset, Y. Lazrek, E. Roux

Collaborations: Centre Hospitalier de Cayenne (porteur)
Association DAAC
IRD Espace-dev

La Guyane et sa frontière Est avec le Brésil étaient considérées comme une zone de transmission modérée du paludisme. De manière générale, les études de dépistage actif dans les zones de faible transmission montrent un nombre de non négligeable de porteur asymptomatiques. Dans la perspective de l'élimination du paludisme, la caractérisation du réservoir parasitaire humain est fondamentale. Ainsi, une enquête transversale a été menée entre octobre et décembre 2017, incluant 1549 habitants de la commune de St Georges de l'Oyapock, frontalière avec le Brésil. La prévalence de *Plasmodium spp.* chez les habitants a été déterminé par tests de diagnostic rapide (TDR) sur le terrain puis PCR en temps réel multiplex au laboratoire. Les habitations ont été géoréférencées et les données épidémiologiques, démographiques et d'histoire de la maladie colligées. Une analyse de cluster a été conduite ainsi qu'une analyse multivariée des facteurs de risque. La PCR a permis d'identifier 100 Individus porteurs de parasites, 90% de *P. vivax* et 10% de *P. falciparum*. Seulement 13 personnes présentaient un TDR positif. La prévalence globale du paludisme était de 6,66% mais variait en fonction des quartiers entre 0 à 29,5%. Soixante-quatorze pour cent des infections étaient asymptomatiques. Le risque de portage de parasites était significativement plus élevé dans les quartiers éloignées : Trois Palétuviers: RR = 7,16, p < 0,01, Adimo: RR = 12,43, p = 0,046 et Blondin2: RR = 5,15, p = 0,002. Dans l'analyse multivariée, être âgé de plus de 15 ans, vivre dans un quartier éloigné, avoir des antécédents vis-à-vis du paludisme, de l'anémie et un faible aux de plaquettes étaient associées à un risque augmenté d'être porteur tout comme vivre à proximité de la forêt. L'étude actuelle a permis de définir la distribution spatiale des porteurs de parasites et montre une répartition hétérogène de ces derniers. Ces résultats sont un préalable indispensable à la définition d'une stratégie de santé publique globale visant à éliminer le paludisme de la zone.

Communication orale Mosnier E *et al.* JNI 2018.

3.5.3. Foyer épidémique de paludisme autochtone à *P. vivax* en Guyane à la frontière avec le Brésil, 2017.

Porteurs du projet: E. Mosnier

Collaborations: Centres Délocalisés de Prévention et de Soins de St Georges de l'Oyapock

En 2017, la Guyane a fait face à une augmentation du nombre de cas de paludisme par rapport aux années précédentes. Cette hausse a été principalement le fait d'un foyer épidémique à *Plasmodium vivax* sur la commune frontalière avec le Brésil, de St Georges de l'Oyapock (STG), entre juillet et décembre 2017. Cet accroissement a également été décrit dans les états voisins brésiliens notamment du Pará et de l'Amapá.

Une étude prospective a été menée de janvier 2017 à fin janvier 2018 en lien avec le Centre de Soins de STG (4000 habitants). Tous les patients atteints par *P. vivax* sur la base nouveaux cas diagnostiqués par d'un TDR à *P. vivax* ont été inclus. Les données socio-démographiques, les dosages de l'activité enzymatique de la G6PD ainsi que les données issues de leur suivi ont été recueillis. Une équipe mixte de médiateurs communautaires, IDE et infectiologues est allée chez les habitants pour réaliser le suivi des cas. Les patients ayant présentés au moins une reviviscence (survenue d'un nouvel accès TDR positif à *P. vivax* >7 à jours et < 90jours après le dernier) ont été comparés aux patients ayant eu présenté un seul accès.

Au total 219 personnes ont présenté un accès à *P. vivax* sur la période d'étude. Parmi ceux-ci, 27% (n=59) ont fait dans les suites au moins une reviviscence. L'âge médian était de 22 ans [19,9-24,27]. Le sexe ratio H/F de 1,23. Le taux d'attaque était de 5,5% à l'échelle de la commune allant jusqu'à 51% pour le quartier de Trois Palétuviers. Le pic épidémique a été atteint en novembre 2017. Seize pourcent (n=31/188) des patients ayant bénéficiés d'un dosage de l'activité enzymatique en G6PD présentaient une activité enzymatique inférieure à la normale (N : 10-14 U/HgL) contre indiquant auprès de l'ANSM l'ATU de la primaquine. Seulement 6,9% des cas (n=13/188) présentaient un déficit intermédiaire selon l'OMS (< 8 U/HgL) selon l'OMS. Aucun déficit sévère n'a été retrouvé. En janvier 2018, 68% des patients

avaient pu bénéficier d'un traitement complet (chloroquine et primaquine). Les enfants de moins de 18 ans et les habitants du quartier de 3 Trois Palétuviers avaient un plus grand risque de reviviscence ($p < 0,005$ et $p = 0,037$).

La mise en place d'une équipe comprenant des médiateurs culturels a permis d'améliorer la couverture thérapeutique. Un alignement sur les recommandations OMS serait à discuter concernant les normes de dosage en G6PD appliqués pour la prescription de primaquine. Les enfants sont apparus comme particulièrement à risque de reviviscences. Les facteurs liés à la ré-augmentation des cas dans la région restent encore à déterminer même si l'isolement géographique, la présence d'*Anophèles darlingi* et l'emballlement du foyer à Trois Palétuviers y a possiblement contribué.

Communication affichée Mosnier E et al. JNI 2018.

3.5.4. Mise en place d'un laboratoire de chimiosensibilité in vitro à l'Hôpital Principal de Dakar (Sénégal) et évaluation 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 sont réalisées chaque année. Une étude d'évaluation de la sensibilité in vitro de *P. falciparum* aux antipaludiques est réalisée chaque année depuis 2009 à Dakar ainsi qu'une évaluation des marqueurs moléculaires de résistance.

Madamet M, Kouta MB, Wade KA, Lo G, Diawara S, Fall M, Bercion R, Nakoulima A, Fall KB, **Benoit N**, Gueye MW, Fall B, Diatta B, **Pradines B**. Absence of association between polymorphisms in the K13 gene and the presence of *Plasmodium falciparum* parasites at day 3 after the treatment with artemisinin derivatives in Senegal. Int J Antimicrob Agents, 2017, 49:754-756.

Diawara S, **Madamet M**, Kounta MB, Lo G, Wade KA, Nakoulima A, Bercion R, **Amalvict R**, Gueye MW, Fall B, Diatta B, **Pradines B**. Confirmation of *Plasmodium falciparum* in vitro resistance to monodesethylamodiaquine and chloroquine in Dakar, Senegal, in 2015. Malar J., 2017, 16:118.

3.5.5. Evaluation du paludisme en Mauritanie

Depuis fin 2010, nous évaluons la prévalence et la morbidité dues au paludisme à *P. falciparum* et à *P. vivax* en Mauritanie associées à une évaluation entomologique des vecteurs et à une évaluation du niveau de résistance aux antipaludiques.

Ould Ahmadou Salem MS, Mint Lekweiry K, Bouchiba H, Pascual A, **Pradines B**, Ould Mohamed Salem Boukhaey A, Briolant S, Basco LK, Bogreau H. Characterization of *Plasmodium falciparum* genes associated with drug resistance in Hodh Eigharbi, a malaria hotspot near Malian-Mauritanian border. Malar J., 2017, 16:140.

4. Alerte

4.1. Pôle Zones non Endémiques

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

En métropole

Deux cas suspects de paludisme autochtones ont été signalés à l'ARS et notifiés au CNR par ses correspondants et pour lesquels des échantillons sanguins ont été transmis pour expertise.

Cas N°1 : Un cas suspect « autochtone » de paludisme à *P. ovale* chez un habitant de la région nancéenne a été déclaré à l'ARS et au CNR Paludisme. Le prélèvement transmis au CNR a permis de confirmer le diagnostic d'accès palustre à *P. ovale* chez un patient ayant chargé une palette chez un importateur de fruits et légumes. Il n'y a pas eu d'autres cas signalés au cours des semaines encadrant le diagnostic, laissant augurer d'un phénomène isolé en rapport probablement avec le transport d'un Anophèle infecté. Le patient a été traité avec succès.

Cas n°2 : Un autre cas de paludisme autochtone à *P. falciparum*, confirmé par le CNR, a été diagnostiqué au CHU de Toulouse. Il s'agit d'une personne originaire de Castres qui ne rapporte pas de voyage récent en zone d'endémie. Il a effectué un déplacement familial à Moulins à un mariage : les signes cliniques se sont déclarés dans la suite immédiate de ce déplacement. Le marié a déclaré parallèlement un accès palustre, diagnostiqué et pris en charge à Dubai où il réside. Malgré nos interventions répétées auprès des autorités de ce pays, il n'a pas été possible de comparer les deux souches plasmodiales pour confirmer un lieu unique de contamination. Les participants au mariage étaient de diverses provenances : l'hypothèse d'un paludisme de « colis », en lien avec la visite d'un invité au mariage est retenue pour ce cas. Il n'y a pas eu d'autres cas cryptiques déclarés ou diagnostiqués autour de celui-ci.

Des cas suspects peuvent également être l'occasion d'échanges entre le CNR, l'ARS et l'InVS : des voyages non signalés sont fréquemment l'élément épidémiologique qui permet d'écartier un cas autochtone.

4.3. Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane

Phénomènes anormaux en Guyane

La procédure de signalement propre au Pôle Zones Endémiques est détaillée dans l'annexe 1 du présent rapport

L'année 2017 a été marquée par une transmission saisonnière massive sur la commune de St Georges de l'Oyapock. Le CNR participé à la caractérisation de cette épidémie au travers des isolats qui lui ont été transmis mais aussi a participé à sa prise en charge en déployant une équipe normalement affectées aux activités de recherche opérationnelle. Cette équipe est coordonnée par le Dr Mosnier infectiologue à L'Hôpital de Cayenne. Accompagnée de médiateurs en santé communautaire, elle a permis entre octobre 2017 et janvier 2018 la prise en charge des patients et surtout à l'administration de primaquine. Cette intervention ciblée et au plus près de patients a permis d'atteindre un taux de couverture de 68% par la primaquine contre 5-10% en temps normal.

Par ailleurs, le CNR a participé à la caractérisation d'un petit foyer épidémique le long du Maroni en Kayodé en mai 2017.

5. Activités de rétro-information, de formation et de conseil

5.1. Conseil et expertise aux professionnels de santé

5.1.1. Pôle Zones non endémiques

Participation de S Houzé à l'enseignement en parasitologie du 1^{er} et 2^{ème} 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, DIU Médecine du voyage et santé des voyageurs.

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^{er} et 2^{ème} 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 B Pradines aux cours de Master 2^{ème} 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*.

Participation de B Pradines, R Amalvict, N Benoit et J Mosnier à la formation « Actualité du paludisme dans les armées », EVDG & CESP, « Tests de diagnostic rapide et résistance » au profit des militaires partant outre-mer.

Participation de B Pradines au MOOC « le paludisme », en charge du cours « la résistance aux antipaludiques », Université de la Méditerranée, Marseille.

Guides élaborés

Les détails de la collaboration entre le LA-ZE 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 en 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.

5.1.2. Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane

Les appels téléphoniques sont réceptionnés par les responsables du Pôle Zones Endémiques 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.

Au cours de ses actions de sensibilisation, le Pôle Zones Endémiques en profite pour échanger avec les professionnels sur les différentes méthodes de diagnostic, les différentes actions à mettre en place dans le cadre du contrôle et de l'élimination du paludisme en Guyane et surtout l'actualité en terme de résistances aux antipaludiques.

Les détails de la collaboration entre le Pôle Zones Endémiques 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 en 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.

Conformément aux nouvelles exigences de la biologie médicale, seuls les résultats de diagnostic de paludisme par PCR en temps réel sont rendus nominativement aux partenaires. Les résultats des études de chimiosensibilité le sont sur demande exclusivement. Sinon les données sont générées dans un objectif de surveillance et analysées de façon globale.

Une **rétro-information** est également organisée pour les partenaires du Pôle Zones Endémiques 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 Pôle Zones Endémiques.

La périodicité de ce bulletin est annuelle. Le dernier bulletin paru est celui concernant l'année 2017 (cf. Annexe 7). Il est très largement diffusé par voie électronique à l'ensemble de nos partenaires (CDPS, Organisation Panaméricaine de la Santé, Cire-AG, ARS, InVS, DGS, SPF, médecins de ville...).

5.2. Conseil et expertise aux autorités sanitaires

5.2.1. Pôle Métropole

Le CNR Paludisme a participé plus particulièrement en 2017,

- à la mise à jour des recommandations nationales de prise en charge du paludisme (SPILF 2017)
- aux réunions téléphoniques impliquant les ARS, la DGS, SPF sur les mesures à mettre en place suite aux signalements de deux cas de paludisme autochtone en septembre 2017
- à la première réunion technique sur le paludisme à Mayotte qui s'est tenu les 7 et 8 décembre 2017 à Mayotte, organisée par l'ARS Océan Indien,
- à l'élaboration des avis du Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP) relatifs au traitement altruiste par Primaquine des accès à *P. falciparum* en Guyane et à Mayotte
- à la révision de l'avis du HCSP sur le traitement radical par primaquine des accès palustres à *P. vivax* et *P. ovale* (en cours)

5.2.2. Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane

Le CNR Paludisme, Pôle Zones Endémiques participe à toutes les réunions organisées par les autorités de santé guyanaises en tant que conseiller et expert des questions de paludisme. Ce temps de conseils et d'expertise est une activité majeure du Pôle Zones Endémiques. Il y dédie un temps personnel considérable. Ainsi en 2017 ont eu lieu des réunions d'échanges autour :

- de la refonte de la carte de risque de paludisme en Guyane,
- des épidémies observées et de leur prise en charge,
- du suivi du plan paludisme,
- des projets de recherche opérationnels conduits par le laboratoire, notamment ELIMALAR,
- du projet de recherche opérationnel MALAKIT conduit par le CIC-EC de l'Hôpital de Cayenne.

En 2017 il n'a cependant pas participé aux échanges autour des cas groupés de paludisme observés sur l'île de Mayotte.

En termes d'expertise nationale, le Pôle Zones Endémiques a participé à l'élaboration des nouvelles recommandations nationales de prise en charge du paludisme et plus particulièrement pour ses connaissances sur l'épidémiologie du paludisme en zone endémique. Compte tenu de ses compétences, on peut regretter que les résistances aux antipaludiques n'aient pas été discutées avec le groupe « prise

en charge », ni que les aspects diagnostic en zone reculée n'est pu être discuté via le groupe « diagnostic ».

Par ailleurs, la responsable du Pôle Zones Endémiques participe aux discussions actuelles du HCSP autour des recommandations vis-à-vis de la primaquine à visée altruiste et anti-hyponozoïtaire.

Au niveau international, le laboratoire de l'Institut Pasteur de la Guyane est un partenaire majeur de l'Organisation Mondiale de la Santé en Amazonie et surtout sur le plateau des Guyanes en tant que Centre Collaborateur de l'OMS. Le point focal de ce centre est Lise Musset. Après un premier axe de coopération aux des antipaludiques pour la période 2014-2017, ses activités se sont étendues pour la période 2018-2021 à la pertinence des méthodes diagnostiques dans la zone. Dans ce cadre, un certains nombres d'isolats étrangers sont analysés et le laboratoire participe aux côtés de l'OMS/PAHO à un certain nombre de réunions régionales ou du programme global à Genève.

5.3. Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public...)

5.3.1. Pôle Métropole

Le CNR Paludisme, Pôle zones non endémiques n'a pas participé à des actions grand public en 2017.

5.3.2. Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane

Comme chaque année, en 2017, le Pôle Zones Endémiques a participé à une émission radio autour des messages de santé publique pour mieux lutter contre le paludisme : « se faire dépister tôt » et « se protéger des piqûres d'*Anopheles* ». En 2017, la recherche opérationnelle PALUSTOP a eu pour objectif de recueillir des données chiffrées autour des connaissances attitudes et pratiques des habitants vivant en zone d'endémie vis-à-vis du paludisme de manière à identifier les leviers possibles pour améliorer les messages de lutte contre le paludisme. L'objectif sera aussi de proposer des méthodes de sensibilisation auprès de la population, innovantes et adaptées aux modes de vie et à la culture des personnes cibles.

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

6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année N

6.1.1. Pole Zones non Endémiques

6.1.1.1. Echecs thérapeutiques aux CTA dans le paludisme d'importation à *P.falciparum*. (présentation orale à la RICAI)

Objectifs – Introduction Les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) sont les traitements de première intention recommandés pour l'accès palustre. Récemment, des marqueurs moléculaires parasitaires ont été associés aux échecs de traitement aux CTA en Asie du Sud Est, dans la région du Mékong. Cette étude vise à analyser les échecs thérapeutiques rapportés au CNR du Paludisme après traitement par les CTA artéminol-pipéraquline ou artémether-luméfantine, dans un contexte de paludisme contracté en Afrique su Saharienne.

Matériels et méthodes Les échecs thérapeutiques aux CTA ont été recherchés rétrospectivement dans la base de données du CNR Paludisme. Les marqueurs moléculaires parasitaires associés à une résistance aux antipaludiques (mutations ponctuelles dans les gènes *pfcr1*, *pfmdr1* et *kelch13*, *exo415*, *pfap2mu*, *pfubp1* et niveaux d'expression des gène *pfmdr1* et *plasmepsin II*) ont été analysés sur les isolats de *P. falciparum* des échecs thérapeutiques (du diagnostic initial et de l'échec thérapeutique) et sur deux isolats témoins provenant du même pays de contamination pour lesquels le succès

thérapeutique au même traitement avait été confirmé. Les concentrations inhibitrices 50% (CI50) vis à vis des principaux antipaludiques avaient été déterminées.

Résultats Dix-sept cas d'échecs thérapeutiques aux CTA ont été inclus ainsi que 34 isolats témoins. L'analyse des isolats des échecs thérapeutiques comparés aux isolats témoins n'a pas montré de différence dans la distribution des marqueurs moléculaires. De même, l'étude du gène *kelch13* a retrouvé aucune des mutations décrites associées à une résistance. Les génotypes des isolats des échecs sont identiques aux isolats initiaux, il n'y a donc pas eu de sélection d'un isolat résistant sous traitement et ni ré-infestation. Les CI50 étaient dans les limites de sensibilité admises, sans différence entre les isolats échecs et les isolats témoins qui leur ont été associés.

Conclusion Il n'a pas été identifié de marqueurs moléculaires prédictifs d'un échec thérapeutique aux CTA. Ces résultats confirment l'absence de génotype de résistance en Afrique de l'Ouest. Une concentration insuffisante en antipaludiques est suspectée pour expliquer ces échecs. Les cliniciens doivent être sensibilisés au respect des modalités de traitement afin de garantir l'efficacité thérapeutique.

6.1.1.2. Prévalence des délétions des gènes *pfhrp2* et *pfhrp3* chez *Plasmodium falciparum* importé en France métropolitaine

Les nouvelles recommandations 2017 pour le diagnostic du paludisme d'importation consolident l'utilisation des TDR en première intention pour le diagnostic du paludisme en France Métropolitaine. Ce test est notamment très utilisé dans les laboratoires n'effectuant pas la goutte épaisse. L'antigène HRP-2 spécifique de *Plasmodium falciparum* est un des antigènes détecté par ces dispositifs. L'existence de souches non sécrétrices d'HRP-2 a été décrite en Amérique Latine mais peu de données existent concernant la présence de ces souches en Afrique malgré l'utilisation massive de ces TDR. L'objectif de ce travail a été d'étudier la délétion du gène HRP-2/HRP-3 des isolats de *Plasmodium falciparum*, reçus au CNR pour lesquels il a été observé une discordance frottis+/TDR.

A partir d'une extraction de la base voozanoo entre 2012 à 2017, 109 isolats ont été identifiés et génotypés sur le gène HRP-2/HRP-3 : 8 (7%) souches de *P. falciparum* étaient délétées pour les gènes HRP-2/HRP-3, 19 (17%) délétées pour le gène HRP-2, et 9 (8%) pour le gène HRP-3.

La présence de la délétion HRP-2/HRP-3 existe en Afrique subsaharienne. Des études complémentaires pour mieux caractériser ces délétions sont en cours au CNR.

(Travail réalisé dans le cadre d'un stage de BTS)

6.1.1.3. Etude du répertoire des anticorps des voyageurs

De précédents travaux effectués au CNR ont identifiés des facteurs d'hôtes comme influençant la survenue des accès palustres graves : l'ethnie africaine et la préexposition aux parasites (ATCD d'accès palustre). L'immunité humorale ayant un rôle prépondérant dans le contrôle de l'infection palustre, nous nous intéressons à l'étude du répertoire anticorps des voyageurs présentant un accès palustre d'importation (simple ou grave). Les études quantitative (quantité d'Ac se fixant à la surface du GR parasité par FACS) et qualitative (% inhibition de cytoadhérence par ELISA) de ce répertoire s'effectuent à partir de souches de laboratoires (HB3, ItG, 3D7 et VarO) de phénotype de cytoadhérence connu (ICAM-1, CD36, rosetting, EPCR). Ce travail en voie de finalisation fera l'objet d'un stage de master 1.

6.1.1.4. Identification de nouveaux marqueurs moléculaires de résistance

Evaluation de gènes potentiellement impliqués dans la résistance aux antipaludiques (*pfmdr5*, *pfmdr6*, exonucléase, RING E3 ubiquitin protein ligase, *pfact*, *pfugt*, *pfcarl*).

Gendrot M, Diawara S, **Madamet M**, Kounta Mb, Briolant S, Wade Ka, Fall M, **Benoit N**, Nakoulima N, **Amalvict R**, Diémé Y, Fall B, Wade B, Diatta B, **Pradines B**. Association between polymorphisms in the *pfmdr6* gene and *ex vivo* susceptibility to quinine in *Plasmodium falciparum* parasites from Dakar, Senegal. Antimicrob Agents Chemother., 2017, 61:e01183-16.

6.1.1.5. Criblage de nouveaux composés potentiellement antipaludiques (*in vitro* et *in vivo*) et développement de nouveaux antipaludiques

Evaluation *in vitro* de composés naturels et du bleu de méthylène (Proveblue). Identification de gènes pouvant être impliqués dans la diminution de sensibilité au bleu de méthylène.

Fall B, **Madamet M**, Diawara S, Briolant S, Wade KA, Lo G, Nakoulima A, Fall M, Bercion R, Kounta MB, **Amalvict R**, **Benoit N**, Gueye MW, Diatta B, Wade B, **Pradines B**. Ex vivo activity of Proveblue, a methylene blue, against field isolates of *Plasmodium falciparum* in Dakar, Senegal from 2013-2015. *Int J Antimicrob Agents*, 2017, 50:155-158.

Le PM, Srivastava V, Nguyen TT, **Pradines B**, **Madamet M**, **Mosnier J**, Trinh TT, Lee H. Stephanine from *Stephania venosa* (blume) spreng showed effective antiplasmodial and anticancer activities, the latter by inducing apoptosis through the reverse of mitotic exit. *Phytother Res.*, 2017, 31:1357-1368.

6.1.2. Pôle Zones Endémiques : Laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane

ELIMALAR : un projet au service des populations éloignées et des autorités

Porteur de projet : L. Musset – Laboratoire de parasitologie Institut Pasteur de la Guyane.

Collaboration : E. Mosnier, F. Djossou – UMIT – CDPS – Hôpital de Cayenne.

Financements : Europe FEDER – ARS Guyane – IPG – Hôpital de Cayenne.

En Guyane, le paludisme est aujourd'hui essentiellement retrouvé : i) au niveau des zones orpaillées et, ii) dans des foyers de transmission dits « autochtones » situés dans certains quartiers et/ou villages de la commune de Saint Georges de l'Oyapock (village Trois Palétuviers, quartier Espérance, village Blondin) ou le long du Maroni (Talhuen, Twenké).

Le projet ELIMALAR vise à évaluer différentes approches/outils pour améliorer la lutte contre le paludisme en Guyane et tendre le plus rapidement possible à son élimination dans ces quartiers. Il a pour finalité d'**orienter et d'accompagner les décideurs en santé publique lors du passage de la phase de contrôle de la maladie à une phase d'élimination du paludisme en Guyane (Figure 42).**



Figure 42. Stratégie de lutte contre le paludisme dans une région en fonction du niveau de transmission.

De manière schématique, ce changement de phase s'opère une fois que le paludisme est suffisamment contrôlé dans une zone (sur la base du nombre de cas déclarés). Il implique un changement d'approche en ciblant les patients porteurs de parasites dans les poches résiduelles de transmission afin de stopper définitivement le paludisme. Que les approches soient ciblées ou généralistes, elles reposent toutes sur des méthodes diagnostiques performantes et des traitements fiables et efficaces.

Ainsi, ce projet comporte deux axes visant à répondre à deux questions :

1. **REAGIR** ou est-ce les associations d'antipaludiques à base de dérivés de l'artémisinine (ACT) associé à une molécule partenaire (luméfantrine ou pipéraquline) aujourd'hui recommandées dans le monde entier et utilisées en Guyane pour traiter les patients sont toujours efficaces et si oui, pour combien de temps ?

2. **PALUSTOP** ou est-ce que la mise en place d'un dépistage actif ciblé sur toutes les personnes vivant en zone de transmission en Guyane est pertinente, rentable et efficace ?

Le projet ELIMALAR soumis pour financement au FEDER a reçu un avis favorable et est d'ores et déjà soutenu par l'ARS Guyane. Il est porté par le laboratoire de parasitologie en collaboration avec le Centre Hospitalier Andrée Rosemon. Il associe ainsi deux équipes aux expertises complémentaires. L'unité des maladies infectieuses et tropicales et le département des centres de soins dont l'expérience clinique et de terrain n'est plus à démontrer. Le laboratoire de parasitologie qui maîtrise quant à lui tous les aspects de la biologie parasitaire, du diagnostic du paludisme et dont l'expertise est reconnue au niveau national et international.

REAGIR - Résistance/Emergence aux Artémisinines et ses partenaires sur le plateau des Guyanes : les Identifier pour mieux les faire Reculer.

La lutte mondiale contre le paludisme enregistre un grand succès depuis quelques années notamment grâce au déploiement des médicaments combinés à base de molécules dérivés de l'artémisinine. Ces associations ou ACTs ont pour objectif de limiter l'apparition des parasites résistants du fait de l'action simultanée de deux molécules. Les artémisinines tuent les parasites très rapidement et les molécules elles, la luméfantrine et la pipéraquline dans notre région amazonienne, restent présentent plus longtemps dans le sang et tuer les derniers survivants. Sur le plateau des Guyanes, ces dernières années ont été marquées par différentes alertes liées à la résistance aux artémisinines avec l'identification: i) de patients présentant des retards d'efficacité thérapeutique au Suriname et, ii) de parasites présentant d'une mutation, C580Y, au niveau du gène *pfK13* notamment au Guyana.

Ainsi le laboratoire concentre ses efforts de recherche à mieux comprendre et identifier les déterminants de la résistance aux ACTs dans la région.

a) Mise en place et maîtrise de méthodes d'analyses innovantes au laboratoire

Ces dernières années ont été marquées par le développement de nouvelles méthodes d'analyse et de recherche des parasites résistants qui ont été mises au point à l'Institut Pasteur du Cambodge. Ces méthodes ont été déployées en Guyane et servent aujourd'hui à caractériser les parasites de la région amazonienne. Ainsi, le test de survie RSA (Ring Survival Assay) est utilisé en Guyane dans le cadre de la surveillance de la résistance aux artémisinines et le test PSA (Piperaquine Survival Assay) dans le cadre de la surveillance de la résistance à la pipéraquline.

b) L'artémisinine est-elle toujours utilisable en Amazonie (Guyane, Guyana, Manaus) ?

Pour répondre à cette question, les parasites ont été étudiés au niveau de leur gène *pfK13*. Les premiers résultats montrent que les parasites ne sont pas modifiés en Guyane et à Manaus. Par contre une mutation a été identifiée au Guyana. Nous sommes actuellement en train de modifier artificiellement des parasites avec cette mutation de façon à déterminer son impact réel sur le niveau de résistance. Cette partie du projet est également soutenue par l'OMS et le programme de coopération GUYAMAZON.

PALUSTOP - Résistance/Emergence aux Artémisinines et ses partenaires sur le plateau des Guyanes : les Identifier pour mieux les faire Reculer.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'efficacité de traiter les personnes porteuses de parasites, qu'elles soient malades ou pas dans les zones de transmission dites « autochtones ». L'objectif est également de rechercher d'éventuels facteurs de risques comportementaux et ou géographiques associés au portage de parasites et de définir des actions d'éducation à la santé sur la base des connaissances et croyances actuelles de la population. La première phase de ce projet d'est déroulée entre octobre et décembre 2017 et a permis de diagnostiquer et interroger 1521 personnes sur la commune de St Georges de l'Oyapock. Les premiers résultats seront communiqués courant 2018.

MALAKIT : Autotest et autotraitement visant à améliorer la situation du paludisme chez les personnes vivant dans des zones éloignées de l'offre de soins

Porteur de projet : M. Douine – CIC-EC Hôpital de Cayenne

Collaboration : L. Musset – Laboratoire de parasitologie – Institut Pasteur de la Guyane
S. Vreden – Fondation pour la recherche médicale – Suriname
M. Suarez – FIOCRUZ – Brésil

Financements : Europe INTERREG – ARS Guyane – Hôpital de Cayenne.- Ministères de la santé du Brésil et du Suriname.

Plusieurs études ont ces dernières années objectivé la problématique du paludisme en zones orpaillées, tout particulièrement celles situées en zones reculées à plusieurs heures, voire jours, de l'offre de soin. L'objectif de ce projet est de distribuer des kits d'autodiagnostic et d'auto-traitement aux personnes vivant dans ces zones reculées et de les former à la réalisation de ces tests et la prise du traitement en cas de positivité uniquement. La finalité de ce projet est double : i) limiter les traitements présomptifs et la prise aléatoire et non contrôlée d'antipaludiques en formant les personnes à la prise d'un traitement complet et bien suivi uniquement lorsque la présence de parasites est réelle afin de limiter l'apparition de résistances et, ii) si la distribution atteint une couverture suffisante, diminuer le niveau de transmission du paludisme dans ces zones.

Deux études d'évaluation appelées ORPAL, encadreront cette phase de distribution afin de voir si elle a permis de changer les connaissances, attitudes et pratiques de ces individus et de limiter la transmission du paludisme dans ces zones. Le laboratoire de parasitologie aura la charge des analyses des prélèvements issus de ses campagnes de dépistage actif.

Le CNR Paludisme interviendra lui dans le cadre de ce projet comme partenaire institutionnel auprès des autorités sanitaires impliqué dans la mise en place et la coordination du projet en lien avec l'ARS Guyane le ministère de la santé du Brésil, du Suriname et les ministères français des affaires étrangères et de la santé.

Les premiers résultats de l'étude ORPAL 1 ont été présentés dans les précédents rapports et d'ores et déjà publiés (Douine M et al., *J Antimicrob Chemother*, **2018**. 73: 231-239 ; Douine M et al., *BMC Public Health*, **2017**. 18: 23 ; Douine M et al., *Malar J*, **2016**. 15:315). Le projet MALAKIT dont la conception a commencé il y a plus de quatre ans maintenant débutera en mai 2018 (Douine M et al. 2018. 17 :158). ORPAL 2 elle sera réalisée après un an de distribution dans le cadre de MALAKIT.

6.2. Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

6.2.1. Publications nationales

Aurégan C, Argy N, Hubert V, Aprahamian A, Clain J, Cheron G. [Acquisition of atovaquone-proguanil resistance in imported falciparum malaria in a young child]. *Presse Med*. 2017 Mar;46(3):344-346.

Briolant S, Pradines B, Basco Lk. Rôle de la primaquine dans le contrôle et l'élimination du paludisme en Afrique francophone. *Bull Soc Pathol Exot.*, 2017, 110 :198-206.

Douine M, Musset L, Corlin F, Pelleau S, Mutricy L, Adenis A, Mosnier E, Djossou F, Hiwat H, Demar M, Nacher M. Malaria and illegal gold mining in French Guiana: A major public health challenge. *Bull Epid Hebd*, **2017**. 6: 102-109.

Joste V, Kamaliddin C, Houzé S. Apport de la PCR dans le diagnostic du paludisme. *Les feuillets de biologie*, Juillet 2017.

Kamaliddin C, Joste V, Argy N, Houzé S. [Fluindione and falciparum malaria treated by atovaquone-proguanil]. *Thérapie*. 2018 Apr 3.

Mosnier E, Douine M, Epelboin L, Pelleau S, Pommier de Santi V, Dangel Y, Demar M, Mutricy R, Guarmit B, Nacher M, Brousse P, Davy D, Djossou F, Musset L. Asymptomatic *Plasmodium falciparum* and *vivax* infection in the neighborhood of Blondin, Saint-Georges-de-l'Oyapock District, French Guiana. *Bull Soc Pathol Exot*, **2017**. 110: 265-269.

6.2.2. Publications internationales

Delon F, Mayet A, Thellier M, Kendjo E, Michel R, Ollivier L, Chatellier G, Desjeux G. Assessment of the French National Health Insurance Information System as a tool for epidemiological surveillance of malaria. *J Am Med Inform Assoc*. 2017 May 1;24(3):588-595.

Diawara S, Madamet M, Kounta MB, Lo G, Wade KA, Nakoulima A, Bercion R, Amalvict R, Gueye MW, Fall B, Diatta B, Pradines B. Confirmation of *Plasmodium falciparum* in vitro resistance to monodesethylamodiaquine and chloroquine in Dakar, Senegal, in 2015. *Malar J.*, 2017, 16:118.

Douine M, Mosnier E, Le Hingrat Q, Charpentier C, Corlin F, Hureau L, Adenis A, Lazrek Y, Niemetsky F, Aucouturier AL, Demar M, Musset L, Nacher M. Illegal gold miners in French Guiana : a neglected population with poor health. *BMC Public Health*, **2017**. 18: 23.

Fall B, Madamet M, Diawara S, Briolant S, Wade KA, Lo G, Nakoulima A, Fall M, Bercion R, Kounta MB, Amalvict R, Benoit N, Gueye MW, Diatta B, Wade B, Pradines B. Ex vivo activity of Proveblue, a methylene blue, against field isolates of *Plasmodium falciparum* in Dakar, Senegal from 2013-2015. *Int J Antimicrob Agents*, 2017, 50:155-158.

Gaillard T, Briolant S, Madamet M, Pradines B. The end of a dogma: the safety of doxycycline use in young children for malaria treatment. *Malar J.*, 2017, 16:148.

Gendrot M, Diawara S, Madamet M, Kounta Mb, Briolant S, Wade Ka, Fall M, Benoit N, Nakoulima N, Amalvict R, Diémé Y, Fall B, Wade B, Diatta B, Pradines B. Association between polymorphisms in the *pfmdr6* gene and *ex vivo* susceptibility to quinine in *Plasmodium falciparum* parasites from Dakar, Senegal. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2017, 61:e01183-16.

Joste V, Kamaliddin C, Kendjo E, Hubert V, Argy N, Houzé S. Distinction of *Plasmodium ovale wallikeri* and *Plasmodium ovale curtisi* using quantitative Polymerase Chain Reaction with High Resolution Melting revelation. *Sci Rep*. 2018 Jan 10;8(1):300.

Laroche M, Béranger Jm, Delauney P, Charrel R, Pradines B, Berger F, Ranque S, Bitam I, Davoust B, Raoult D, Parola P. Medical entomology. A reemerging field of research to better understand vector-borne infectious diseases. *Clin Infect Dis.*, 2017, 65(suppl_1):S30-S38.

Le PM, Srivastava V, Nguyen TT, Pradines B, Madamet M, Mosnier J, Trinh TT, Lee H. Stephanine from *Stephania venosa* (blume) spreng showed effective antiplasmodial and anticancer activities, the latter by inducing apoptosis through the reverse of mitotic exit. *Phytother Res.*, 2017, 31:1357-1368.

Leba LJ, Popovici J, Estevez Y, Pelleau S, Legrand E, Musset L, Duplais C. Antiplasmodial activities of dyes against *Plasmodium falciparum* asexual and sexual stages: Contrasted uptakes of triarylmethanes Brilliant green, Green S (E142), and Patent Blue V (E131) by erythrocytes. *Int J Parasitol Drugs Drug resist*, **2017**. 7: 314-320..

Madamet M, Kouta MB, Wade KA, Lo G, Diawara S, Fall M, Bercion R, Nakoulima A, Fall KB, Benoit N, Gueye MW, Fall B, Diatta B, Pradines B. Absence of association between polymorphisms in the K13 gene and the presence of *Plasmodium falciparum* parasites at day 3 after the treatment with artemisinin derivatives in Senegal. *Int J Antimicrob Agents*, 2017, 49:754-756.

Mornand P, Verret C, Minodier P, Faye A, Thellier M, Imbert P; Pediatric Imported Malaria Study Group for the 'Centre National de Référence du Paludisme'. Severe imported malaria in children in France. *A*

national retrospective study from 1996 to 2005. PLoS One. 2017 Jul 27;12(7):e0180758.

Ndour PA, Larréché S, Mouri O, Argy N, Gay F, Roussel C, Jauréguiberry S, Perillaud C, Langui D, Biligui S, Chartrel N, Mérens A, Kendjo E, Ghose A, Hassan MMU, Hossain MA, Kingston HWF, Plewes K, Dondorp AM, Danis M, Houzé S, Bonnefoy S, Thellier M, Woodrow CJ, Buffet PA; French Artesunate Working Group. Measuring the *Plasmodium falciparum* HRP2 protein in blood from artesunate-treated malaria patients predicts post-artesunate delayed hemolysis. Sci Transl Med. 2017 Jul 5;9(397).

Ould Ahmadou Salem MS, Mint Lekweiry K, Bouchiba H, Pascual A, Pradines B, Ould Mohamed Salem Boukhaey A, Briolant S, Basco LK, Bogreau H. Characterization of *Plasmodium falciparum* genes associated with drug resistance in Hodh Eigharbi, a malaria hotspot near Malian-Mauritanian border. Malar J., 2017, 16:140.

Raffetin A, Bruneel F, Roussel C, Thellier M, Buffet P, Caumes E, Jauréguiberry S. Use of artesunate in non-malarial indications. Med Mal Infect. 2018 Feb 5.

Rougeron V, Tiedje KE, Chen DS, Rask TS, Gamboa D, Maestre A, Musset L, Legrand E, Noya O, Yalcindag E, Renaud F, Prugnolle F, Day KP. Evolutionary structure of *Plasmodium falciparum* major surface antigen genes in South America: Implications for epidemic transmission and surveillance. Ecol Evol, 2017. 7: 9376-9390.

Roussel C, Caumes E, Thellier M, Ndour PA, Buffet PA, Jauréguiberry S. Artesunate to treat severe malaria in travellers: review of efficacy and safety and practical implications. J Travel Med. 2017 Mar 1;24(2).

6.2.3. Chapitres d'ouvrage

Pradines B. Antimalarial drug resistance: clinical prospectives. In Antimicrobial drug resistance. Mayers DL, Ouellette M (eds). Springer, 2017, 1245-1275.

6.2.4. Communications nationales

Echecs thérapeutiques aux CTA dans le paludisme d'importation à *P. falciparum*. J. Bailly, S. Cojean, V. Hubert, N. Argy, J. Clain, S. Houzé et les Correspondants du CNR Paludisme. RICAI 2017, 18-19 décembre 2017, Paris (CO)

Les CNR et systèmes de surveillance des maladies parasitaires et fongiques : le CNR du Paludisme. S. Houzé, M Thellier. SMMM, 1-3 février 2018, Rabat.

Musset L, Heugas C, Naldjinar R, Blanchet D, Houze P, Abboud P, Ringwald P, Legrand E, Demar M, Djossou F. 2017. Efficacité thérapeutique de la chloroquine dans le traitement des accès palustres simples à *Plasmodium vivax* en Guyane. 18^{ème} Journées Nationales d'Infectiologie, 21-23 Juin, Saint Malo (France). Communication orale.

6.2.5. Communications internationales

6.2.5.1. Orales

Cerqueira GC, Pelleau S, Melnikov A, Schaffner SF, Volney B, Cheeseman IH, Lazrek Y, Djossou F, McDew-White M, Nair S, Phyto AP, Ashley EA, Anderson TJ, Legrand E, Nosten F, Birren B, Musset L, Neafsey DE. 2017. Comparative longitudinal population genomic surveys of *Plasmodium falciparum* malaria parasites in French Guiana and Thailand. Abst n° 1365. 66rd Annual meeting of the American society of tropical medicine and hygiene, 5-9th November, Baltimore (USA).

6.2.5.2. Affichées

Madamet M, Gendrot M, Foguim F, Robert G, Benoit N, Amalvict R, Mosnier J, Pradines B. Absence of association between ex vivo susceptibility to piperazine and polymorphisms in exonuclease gene and copy numbers in plasmepsin 2 gene in African *Plasmodium falciparum* isolates. 66th Meeting of American Society of Tropical Medicine and Hygiene, Baltimore, USA, 2017, November 5-9.

Pradines B, Gendrot M, Amalvict R, Mosnier J, Benoit N ; Madamet M. Proveblue, methylene blue, as an antimalarial drug. *66th Meeting of American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, USA, 2017, November 5-9.

Rougeron V, Tiedje KE, Chen DS, Rask TS, Gamboa DV, Maestre A, Musset L, Legrand E, Noya O, Yalcindag E, Renaud F, Prugnolle F, Day KP. **2017**. Evolutionary structure of *Plasmodium falciparum* major variant surface antigen genes in South America: Implications for epidemic transmission and surveillance. *Abst n° LB-5230. 66th Annual meeting of the American society of tropical medicine and hygiene*, 5-9th November, Baltimore (USA).

Musset L*, Heugas C*, Naldjinar R, Blanchet D, Houze P, Abboud P, Volney B, Walter G, Lazrek Y, Epelboin L, Pelleau S, Ringwald S, Legrand E, Demar M, Djossou F. **2017**. Highlighting of *P. vivax* resistance to chloroquine in French Guiana during a therapeutic efficacy evaluation. *6th International Conference of Plasmodium vivax research*, 11-14th June, Manaus (Brazil).

6.2.6. Conférences sur invitations

Musset L. **2017**. *Meeting on malaria elimination of P. falciparum malaria: detection, treatment, and surveillance of cases*, 16-18th May, Lima (Peru). Invited conference: Situation of artemisinin resistance in Guyana: update from the *pfk13* gene as a molecular marker.

Musset L. **2017**. *Rencontre d'échanges, Plan de lutte contre le paludisme en Guyane*, 7 mars, Cayenne. Laboratoire de parasitologie : activités, résultats et perspectives dans le cadre de la lutte contre le paludisme.

Musset L. **2017**. *CEMCE*, 10 février, Cayenne. Le plateau des Guyanes est-il la prochaine région d'émergence de la résistance aux artémisinines?

7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux

En Guyane, zone d'endémie du paludisme, des échanges ont lieu régulièrement entre le Pôle Zones Endémiques et le service de démoustication de la collectivité territoriale de 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 au paludisme chez les scolaires etc...).

8. Programme d'activité pour les années suivantes

Pour les deux 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 SPF, les CIRE régionales et les ARS.

Plus particulièrement, le Pôle zones non endémiques du CNR du Paludisme souhaite développer :

- les travaux sur la résistance aux antipaludiques et plus particulièrement vis-à-vis de la pipéraquline et de la doxycycline qui seront poursuivis de même que l'identification et le développement de nouveaux marqueurs moléculaires de résistance. Pour cela, le CNR souhaite recentrer son activité sur l'expertise et l'exploitation des isolats associés à des dossiers cliniques et épidémiologiques bien documentés, éléments indispensables pour valider de nouveaux marqueurs potentiels de résistance.
- l'analyse systématique des génotypes de toutes les souches reçues sera réalisée dans le cadre de projets éventuels de cartographie d'un marqueur donné dont l'évolution est préoccupante (gène K13 par exemple et programme KARMA)
- le séquençage « whole génome » d'isolats d'intérêt clinique spécifique (résistance aux ACT)

- d'un point de vue des outils diagnostiques, la surveillance des isolats délétés au niveau des gènes *pfhrp2* et *pfhrp3* sera poursuivie et réalisée en temps réel
- une enquête sur les performances de la technique Illumigen® (LAMP PCR) dans le diagnostic du paludisme sera mise en place, pour répondre aux questionnements de l'HAS notamment, sur la place de cette technique dans le diagnostic du paludisme.

La surveillance de la résistance *in vitro* aux antipaludiques en collaboration avec des équipes de terrain francophones sera maintenue (Sénégal , Mauritanie) ou initiée (Gabon, Congo).

Maintenant qu'il est accrédité NF EN ISO 15189 le laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de la Guyane maintiendra ses efforts de manière à garder cette accréditation et à déployer des activités de recherche avec un mode de fonctionnement proche des exigences 15189 ce qui permettra d'obtenir des résultats robustes quelle que soit la question étudiée.

L'animation du réseau de partenaire et le dynamisme de l'équipe devrait permettre de maintenir le niveau d'exhaustivité actuelle.

Concernant les activités d'expertise, le Pôle Zones Endémiques poursuivra la caractérisation des zones de transmission autochtones dans le cadre du projet de recherche opérationnel PALUSTOP. Par ailleurs, un effort considérable sera dédié à la caractérisation et la compréhension de la résistance aux ACTs grâce au renforcement de l'équipe courant 2018 possible grâce au financement ELIMALAR obtenu. Enfin, des méthodes de diagnostic rapide devraient être évaluées en lien avec l'ARS Guyane.

Les activités de centre collaborateur OMS du laboratoire continueront à être déployées dans le cadre des termes de référence fixées avec l'OMS autour du suivi des mutations *pfK13* dans la région et du suivi des parasites délétés au niveau des gènes *pfhrp2* et *pfhrp3*.

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. Kouamou, 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.
- Duru, V., N. Khim, R. Leang, S. Kim, A. Domergue, N. Kloeung, S. Ke, S. Chy, R. Eam, C. Khean, K. Loch, M. Ken, D. Lek, J. Beghain, F. Arie, P. J. Guerin, R. Huy, O. Mercereau-Puijalon, B. Witkowski, and D. Menard. 2015. *Plasmodium falciparum* dihydroartemisinin-piperazine failures in Cambodia are associated with mutant K13 parasites presenting high survival rates in novel piperazine *in vitro* assays: retrospective and prospective investigations. *BMC medicine* **13**:305.
- Duru V, Witkowski B, Ménard D. Plasmodium falciparum Resistance to Artemisinin Derivatives and Piperazine: A Major Challenge for Malaria Elimination in Cambodia. *Am J Trop Med Hyg*. 2016 Dec 7; 95(6): 1228–1238.
- 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. Carne, 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* 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. Carne, (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, Ménard 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.

Witkowski B, Duru V, Khim N, Ross LS, Saintpierre B, Beghain J, Chy S, Kim S, Ke S, Kloeung N, Eam R, Khean C, Ken M, Loch K, Bouillon A, Domergue A, Ma L, Bouchier C, Leang R, Huy R, Nuel G, Barale JC, Legrand E, Ringwald P, Fidock DA, Mercereau-Puijalon O, Ariey F, Ménard D. A surrogate marker of piperazine-resistant *Plasmodium falciparum* malaria: a phenotype-genotype association study. *Lancet Infect Dis*. 2017 Feb;**17**(2):174-183.