

Rapport annuel d'activité	2025
Centre de national de référence du Paludisme	ANNEXES

Table des matières

Annexe 1 : Missions et organisation du CNR	4
1.1 Missions du CNR Paludisme et des trois laboratoires associés	4
Rappel du cahier des charges	5
Laboratoire coordonnateur de l'hôpital Bichat	8
Laboratoire associé de Pitié-Salpêtrière	8
Laboratoire associé IRBA	9
Le laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de la Guyane	10
1.2 Organisation du CNR et de ses laboratoires associés	10
Ressources humaines	11
1.3 Locaux et équipements	17
1.4 Collections de matériel biologique	22
1.5 Démarche qualité du laboratoire	22
1.6 Ethique, protection des données et management de la base	23
Annexe 2 : Capacités techniques du CNR	27
2.1 Liste des techniques de référence	27
Annexe 3 : Autres informations	35
Annexe 4 : Recensement des collections de matériels biologiques	35
Annexe 5 : Liste des Centres Hospitalo-Universitaires et des centres hospitaliers régionaux correspondants du CNR du Paludisme - Pôle métropole en 2024	36
Annexe 6. Partenaires guyanais : localisation, fréquence des liaisons avec Cayenne et niveau de participation à la surveillance biologique du paludisme en 2024	39
Annexe 7 : Méthodes d'analyse	40
Annexe 8 : Présentation des valeurs de chimiosensibilités, isolats africains 2017-2024	44
8.1 La Chloroquine	44
8.2 La Quinine	44
8.3 La Dihydro-artémisinine	45
8.4 La Mono-déséthyl-amodiaquine	45
8.5 La Luméfantrine	46
8.6 La Pipéraquline	46
8.7 La Méfloquine	47
8.8 La doxycycline	47
Annexe 9 : Bulletin de rétro information Guyane 2024	48

Table des illustrations

Tableau 1 : Récapitulatif des missions du CNR Paludisme exercées par chacun des laboratoires.	7
Tableau 2 : Organisation schématique et activités au sein du CNR du Paludisme.....	11
Tableau 3 : Techniques de laboratoire disponibles sur les différents sites du CNR Paludisme.	27
Tableau 4 : Recommandations thérapeutiques en Guyane, au Suriname et au Brésil en 2017.....	29
Tableau 5 : Marqueurs disponibles sur les différents sites du CNR Paludisme.	34
Tableau 6 : Liste des Centres Hospitalo-Universitaires et des centres hospitaliers régionaux correspondants du CNR du Paludisme - Pôle métropole en 2024	36
Tableau 7 : nombre de déclarations avec les données complétées et d'isolats transmis aux laboratoires du CNR du Paludisme pour chaque correspondant	38
Figure 1: Organigramme du CNR Paludisme	5
Figure 2 : Organigramme du laboratoire coordinateur Bichat.....	12
Figure 3 : Organigramme du laboratoire associé Hôpital Pitié-Salpêtrière.....	14
Figure 4 : Organigramme du laboratoire associé IRBA.	15
Figure 5: Organigramme du laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de la Guyane.	17
Figure 6 : CNR du Paludisme Hôpital Pitié-Salpêtrière, Pavillon Laveran 1er étage, plan des locaux	18
Figure 7 : Plan du laboratoire NSB2/3 de l'Unité Parasitologie et entomologie	19
Figure 8 : Plan du deuxième étage mis à disposition du laboratoire de parasitologie.....	21
Figure 9 : Plan du rez-de-chaussée en partie est mis à disposition du laboratoire de parasitologie.	21
Figure 10 : Stratégie de contrôle des données saisies et de traitement des doublons	43
Figure 11 : Evolution des chimiosensibilités à la chloroquine de 2017 à 2024	44
Figure 12 : Evolution des chimiosensibilités à la quinine entre 2017 et 2024	44
Figure 13 : Evolution des chimiosensibilités à la dihydroartémisinine entre 2017 et 2024.....	45
Figure 14 : Evolution des chimiosensibilités à la Mono déséthyl-amodiaquine entre 2017 et 2024	45
Figure 15 : Evolution des chimiosensibilités à la luméfántrine entre 2017 et 2024	46
Figure 16 : Evolution des chimiosensibilités à la pipéraquline entre 2017 et 2024	46
Figure 17 : Evolution des chimiosensibilités à la méfloquine entre 2017 et 2024	47
Figure 18 : Evolution des chimiosensibilités à la doxycycline entre 2017 et 2024	47

Annexe 1 : Missions et organisation du CNR

1.1 Missions du CNR Paludisme et des trois laboratoires associés

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 » en charge du paludisme d'importation en France métropolitaine, aux Antilles, sur l'île de Réunion et sur l'île de Mayotte, et le pôle « zones endémiques », s'intéressant plus particulièrement aux territoires présentant une transmission autochtone du paludisme, la Guyane.

Le pôle **zones non endémiques** est composé par :

1. Le laboratoire coordonnateur du CNR Paludisme situé à l'hôpital Bichat, HUPNVS - AP-HP, UPC, UMR MERIT IRD261/INSERM U1344, à Paris avec pour responsable, le Pr Sandrine Houzé, coordonnateur du CNR Paludisme, pharmacien, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier (PU-PH),
2. Le laboratoire associé de Parasitologie-Mycologie du CHU Pitié-Salpêtrière (PSL), AP-HP, UPMC, Institut Pierre Louis d'Epidémiologie et de Santé Publique - iPLESP, UMR_S 1136 INSERM/UPMC - dont le responsable est le Dr Marc Thellier, médecin, Maître de Conférences Universités-Praticien Hospitalier (MCU-PH),
3. Le laboratoire associé de l'Unité Parasitologie et entomologie de l'Institut de Recherche Biomédicale des Armées, à Marseille (UMR VITROME, Institut Hospitalo-Universitaire en infectiologie), avec pour responsable, le Dr Bruno Pradines, pharmacien en chef, responsable de ce laboratoire.

Le pôle **zones endémiques** est composé par :

4. Le laboratoire associé de parasitologie, de l'Institut Pasteur de la Guyane, Centre collaborateur OMS pour la surveillance des résistances aux antipaludiques, à Cayenne, avec pour responsable, le Dr Lise Musset, coordonnatrice adjointe du CNR, pharmacienne, responsable de ce laboratoire.

CNR du Paludisme

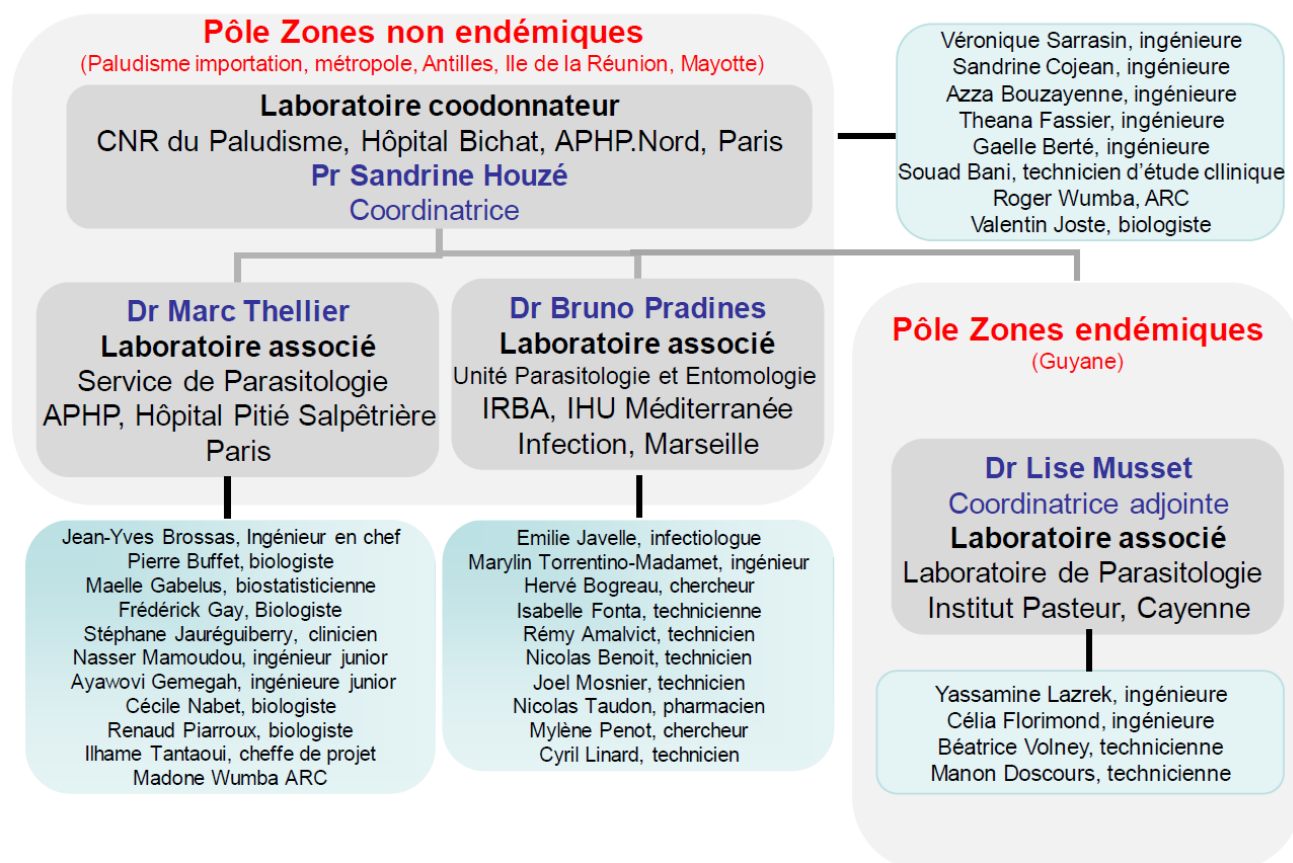


Figure 1: Organigramme du CNR Paludisme

Rappel du cahier des charges

Les laboratoires constituant le CNR Paludisme répondent aux missions inscrites dans le cahier des charges défini par ANSP, à savoir :

Expertise

- en participant au développement et en évaluant les techniques de diagnostic ;
- en expertisant les souches, leur résistance aux antipaludéens et en contribuant à l'évaluation des mécanismes de résistance ;
- en contribuant à des études de recherche appliquée visant à documenter le risque de paludisme chez les voyageurs et en zone d'endémie, les facteurs de risque influant la morbidité et la mortalité, l'évaluation des mesures de prévention ;
- en mettant en place les moyens d'un diagnostic différentiel paludisme / babésiose

Conseil

- en apportant son soutien technique aux autorités au plan national et local (notamment dans le cadre des programmes internationaux de lutte contre le paludisme dans la région des Amériques) ;
 - en suivant l'évolution des zones de résistance en liaison avec les réseaux d'experts internationaux notamment pour adapter les recommandations aux voyageurs.

Contribution à la surveillance, en lien avec l'agence nationale de santé publique

- en assurant la surveillance du paludisme d'importation et autochtone, par la mise en place d'un réseau de laboratoires ou de services cliniques afin de suivre les tendances évolutives du paludisme d'importation et autochtone en France métropolitaine et hors métropole (notamment en Guyane) et d'identifier les groupes à risque. La représentativité de ce réseau est à évaluer en collaboration avec l'agence nationale de santé publique ;
- en contribuant à l'investigation des signalements de cas de paludisme sur le territoire, en particulier par une expertise diagnostique et le typage des souches ;
- en fournissant chaque année une analyse de l'épidémiologie du paludisme d'importation et autochtone apportant une information actualisée, notamment pour la mise à jour annuelle des recommandations aux voyageurs ;
- en assurant la surveillance des chimiorésistances aux antipaludiques, notamment en s'appuyant sur des réseaux représentatifs en Guyane et, dans la mesure du possible, les pays frontaliers (Brésil et Surinam) afin de définir les zones de résistance pour adapter les schémas prophylactiques et thérapeutiques ;
- en développant des collaborations avec les réseaux de parasitologie et de surveillance du paludisme à l'échelle nationale, européenne et internationale.

Contribution à l'alerte

- en signalant à l'agence nationale de santé publique tout événement inhabituel concernant le paludisme d'importation et autochtone : nouvelle zone d'endémie ; augmentation inhabituelle de cas, modification des formes cliniques (répartition, modification de leur expression clinique, formes inhabituelles), apparition de cas groupés, cas autochtone en France métropolitaine, apparition de nouveaux phénotypes de résistance (notamment en Guyane), extension d'une zone de résistance, etc.

Les activités du CNR Paludisme mises en place afin de répondre à ses missions sont résumées dans le Tableau 1 et sont détaillées pour chaque pôle dans les paragraphes suivants.

Tableau 1 : Récapitulatif des missions du CNR Paludisme exercées par chacun des laboratoires.

	Zones non-endémiques			Zones endémiques
	Hôpital Bichat	Hôpital PSL	IRBA	IPG
Animation du réseau des correspondants	✓	✓	✓	✓
Gestion de la base de données zones non endémiques		✓		
Gestion de la base de données Guyane				✓
Etude épidémiologique des cas de paludisme		✓		✓
Caractérisation de foyers épidémiques				✓
Expertise diagnostique des échantillons transmis	✓	✓ (graves)	✓	✓
Diagnostic différentiel babesia/paludisme	✓			
Phénotypage des parasites vis-à-vis des antipaludiques	✓		✓	✓
Etude <i>ex vivo</i> et <i>in vitro</i> de la sensibilité aux dérivés de l'artémisinine et leur molécules partenaires : tests RSA et PSA	✓		✓	✓
Suivi du niveau d'efficacité thérapeutique	✓		✓	✓
Etude des marqueurs moléculaires de résistance	✓		✓	✓
Identification de nouveaux marqueurs de résistance	✓		✓	✓
Modification génétique de parasites				✓
Adaptation des parasites à la multiplication <i>in vitro</i>			✓	✓
Etablissement d'une collection incluant la cryoconservation des isolats	✓	✓ (graves)	✓	✓
Dosages plasmatiques des antipaludiques à visée prophylactique			✓	
Dosages plasmatiques des antipaludiques à visée thérapeutique			✓	
Surveillance Réunion et Antilles	✓			
Surveillance Mayotte			✓	
Surveillance des résistances en zone d'endémie			✓	✓
Evaluation entomologique			✓	*
Conseil et alerte auprès des autorités sanitaires	✓	✓		✓
Dosage et génotypage G6PD				✓
Surveillance de la mise à disposition de l'artésunate intraveineux (Autorisation d'accès compassionnel) †		✓		
Surveillance du risque infectieux lié aux transfusions et aux greffes	✓			

* Surveillance effectuée en Guyane par l'équipe de l'Unité d'entomologie médicale de l'Institut Pasteur de la Guyane financée par l'ARS Guyane

† Rédaction du protocole d'utilisation thérapeutique, conseils cliniques et biologiques, recueil et signalement des effets indésirables dont l'anémie hémolytique post artésunate (cf publications), réalisation d'analyses spécialisées, mise au point d'outils spécifiques (mesure de la pitémie), rédaction d'un rapport annuel de surveillance spécifique pour l'ANSM

Laboratoire coordonnateur de l'hôpital Bichat

Le laboratoire coordonnateur de l'hôpital Bichat AP-HP assure :

- la validation épidémiologique et d'expertise diagnostique des isolats transmis par les correspondants de France métropolitaine (à l'exception de la région PACA), de l'île de la Réunion, et des Antilles, Guadeloupe et Martinique. Les diagnostics de paludisme sont réalisés par les laboratoires des correspondants pour assurer la prise en charge thérapeutique sans délai des patients. Notre mission de CNR est d'expertiser les prélèvements transmis pour confirmer les diagnostics d'espèce difficile : cette étape est réalisée dès réception des prélèvements (les parasites s'altèrent après prélèvement dès 24h). Sur les prélèvements reçus « frais », la confirmation diagnostique est portée par observation microscopique des frottis sanguins et des gouttes épaisses colorés : ceci est très consommateur de temps et repose sur du personnel habilité après une formation longue d'environ 6 mois. Parallèlement, sur l'ensemble des prélèvements reçus, une PCR diagnostique est réalisée pour la confirmation des espèces et pour le diagnostic des associations d'espèces. Cette expertise diagnostique est également disponible pour les laboratoires de biologie médicale non correspondants du CNR au titre des missions d'expertise des CNR,
- le diagnostic parasitologique différentiel de la babésiose : cette activité est en développement,
- le phénotypage des isolats de *P. falciparum* dont la viabilité et la charge parasitaire le justifient : la décision est prise après observation microscopique du frottis sanguin. Si les conditions sont remplies, la mise en culture des parasites est faite immédiatement. Ce phénotypage a pour but d'établir la sensibilité des parasites aux différents antipaludiques testés par la détermination des CI₅₀ (concentration inhibitrice 50%), avec mise en œuvre de radionucléides. Le service de Bichat possède les installations agréées par l'Autorité de Sécurité Nucléaire pour cette activité,
- l'étude des marqueurs moléculaires de résistance aux antipaludiques des isolats reçus. Les marqueurs étudiés sont fonction du traitement prescrit au patient afin d'évaluer le risque d'échec thérapeutique éventuel, ou choisis afin d'apporter des éléments descriptifs de la prévalence des marqueurs d'intérêt dans la population plasmodiale étudiée : ces données permettent de compléter les cartes établies par les réseaux WWARN (WorldWide Antimalarial Resistance Network) ou OMS (Organisation Mondiale de la Santé) de prévalence en fonction de la région d'endémie considérée. Afin de pouvoir exploiter les données générées, ces marqueurs ne sont étudiés que pour les isolats reçus associés à des données épidémiologiques (pays d'endémie) et thérapeutiques (traitement antipaludique et suivi de l'efficacité),
- la cryoconservation des isolats de la métropole (à l'exception de la région PACA),
- la surveillance du risque de transmission du paludisme via les transfusions ou les donneurs d'organes. Nous sommes sollicités par les laboratoires de qualification des dons de l'EFS pour la recherche d'ADN plasmodial chez des donneurs dont la sérologie palustre serait devenue positive entre deux dons pour confirmer l'absence de risque de transmission, et par les coordinations des greffes pour qualifier les donneurs potentiels vis à vis du paludisme (PCR paludisme et/ou sérologie palustre).

Laboratoire associé de Pitié-Salpêtrière

Le laboratoire associé AP-HP, Pitié-Salpêtrière assure précisément pour la France métropolitaine :

- ✓ Pour la partie épidémiologie, surveillance et alerte :
 - Le suivi et la gestion du réseau des correspondants du CNR Paludisme (attribution des mots de passes, gestion des connexions, diffusion des messages et alerte, mise à jour de la documentation, maintenance...)
 - Le développement du logiciel de déclaration en ligne Voozаноо (changement de version)
 - La sécurité du site de déclaration en ligne et des données, en lien avec la société Epiconcept,
 - La gestion des données (contrôles de saisies, recherche d'informations manquantes, correction des erreurs ...),

- L'analyse statistique des données épidémiologiques et l'identification des tendances évolutives annuelles
 - L'organisation de la réunion nationale annuelle,
 - L'animation du site Internet
 - La participation à l'identification et à l'investigation des signalements des cas de paludisme inhabituels, en particulier les cas autochtones de France métropolitaine
- ✓ Pour la partie clinique et biologique du paludisme grave
- La coordination et le suivi de la mise à disposition de l'artésunate IV en ATU pour le traitement des accès palustres graves sur l'ensemble du territoire national (mission déléguée par l'ANSM).
 - L'investigation des cas de paludisme dont la présentation clinique répond aux critères de gravité, physiopathologie, réponse aux traitements, effets indésirables
 - Les conseils aux praticiens pour la prise en charge thérapeutique initiale de l'accès grave, pour le diagnostic ou pour la surveillance des effets indésirables du médicament
 - La mesure de la parasitémie et de la « pittémie » par une technique de cytométrie en flux pour évaluer le risque de survenue d'une anémie hémolytique post artésunate,

Une particularité de l'action de ce CNR est qu'il participe pleinement à la prise en charge médicale des patients avec la réalisation d'analyses spécifiques : vérification d'espèces (expertise microscopique, PCR). En particulier, la surveillance de l'autorisation d'accès compassionnel (AAC), ex-autorisation temporaire d'utilisation (ATU) de l'artésunate intraveineux pour les accès palustres graves, analyses biologiques pour le suivi thérapeutique. L'artésunate intraveineux sauve des vies en comparaison de la quinine intraveineuse pour le traitement des accès graves à *Plasmodium falciparum*. Depuis fin mai 2011, la spécialité MALACEF® (artésunate) 60 mg, poudre et solvant pour solution injectable, est disponible en France dans le cadre d'une ATU nominative puis d'une AAC pour le traitement des accès palustres graves à *Plasmodium falciparum* remplissant les critères de gravité français publiés par la SPILF. Le Haut Conseil de la santé publique a établi des recommandations précises sur la place de l'artésunate IV dans le traitement des formes graves du paludisme à *P. falciparum* mais aussi à *P. vivax* et *P. knowlesi*, chez l'adulte comme chez l'enfant pour l'ensemble des territoires français [1]. L'utilisation du MALACEF® dans ce cadre fait l'objet d'une procédure de surveillance étroite mise en place par l'ANSM dont les modalités sont définies dans le Protocole d'Utilisation Thérapeutique et de recueil d'informations (PUT) [2].

Organisation du recueil de l'information d'efficacité et de tolérance AS France. Depuis mai 2011, le CNR Paludisme-PSL, mandaté par l'ANSM, exerce avec l'aide du Centre Régional de Pharmacovigilance du même hôpital (CRPV-PSL) et le support technique, financier et en personnel de l'équipe Biologie Tissulaire du Globule Rouge BioTiGR dans l'UMR1134 INTS – Paris Diderot – Paris Descartes, comme une mission d'intérêt général la mise en place et le suivi de l'ATU nominative pour la spécialité MALACEF® (artésunate IV) 60 mg. Participe également à cette surveillance le Pr Stéphane Jauréguiberry, chef du service des maladies infectieuses de l'Hôpital du Kremlin-Bicêtre.

[1] <https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=310>

[2] [ATU/RTU - Malacef - ANSM \(sante.fr\)](#)

Laboratoire associé IRBA

Le laboratoire associé IRBA, situé à Marseille assure :

- l'expertise diagnostique des cas de *P. falciparum* de la région PACA, et des correspondants de Bordeaux, Toulouse, Montpellier et de Mayotte. La région PACA est la deuxième région de France pour le nombre de cas observés. La transmission de ses isolats au laboratoire de l'IRBA de Marseille

permettra un transport dans un délai < 48h donc la prise en charge par l'IRBA d'échantillons de qualité qu'un transport sur Paris aurait altérés. Les isolats de Bordeaux, Toulouse et de Mayotte se justifient par des projets en cours, PHRC, et des conventions passées avec ces correspondants.

- le développement et l'évaluation de nouvelles techniques de diagnostic (TDR, biologie moléculaire).
- le phénotypage des cas de *P. falciparum* de la région Bordeaux, Toulouse, Montpellier et de Mayotte.
- l'étude des marqueurs moléculaires de résistance aux antipaludiques des isolats reçus.
- la cryoconservation des isolats de la région PACA, Bordeaux, Toulouse, Montpellier et de Mayotte.
- les dosages plasmatiques d'antipaludiques utilisés à visée prophylactique dans le cadre des missions du CNR de surveillance de l'efficacité prophylactique des traitements recommandés en France, sur l'ensemble des prélèvements transmis au CNR (dont ceux reçus au laboratoire coordonnateur) et les dosages plasmatiques d'antipaludiques utilisés à visée thérapeutique dans le cadre des missions du CNR de surveillance de l'efficacité thérapeutique des traitements recommandés en France. Ces dosages seront centralisés sur la plateforme de l'Unité de Toxicologie analytique de l'IRBA.
- l'identification, le développement et la validation de nouveaux marqueurs moléculaires de résistance avant leur mise en œuvre en routine.
- la surveillance du paludisme en zone d'endémie en relation avec les missions de terrain coordonnées par les autorités militaires.
- l'évaluation entomologique des suspicions de paludisme autochtones.

Le laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de la Guyane

Le laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de la Guyane assure l'ensemble des missions du CNR dans les territoires endémiques pour le paludisme à savoir, la Guyane :

- expertise diagnostique des isolats transmis par les partenaires locaux,
- investigation de foyers épidémiques par dépistage actif et recherche de cas index,
- contribution à la surveillance épidémiologique du paludisme autochtone en lien avec SpF en Guyane (consolidation de données, sensibilisation conjointe des partenaires),
- évaluation des nouvelles méthodes de diagnostic,
- phénotypage des isolats de *P. falciparum* à l'aide de la méthode isotopique et test de survie,
- constitution d'une collection de parasites, plasma et ADN avec adaptation systématique des isolats de *P. falciparum* à la multiplication *in vitro*,
- étude génome entier à la recherche de marqueurs de résistance et de caractérisation de foyers de transmission,
- étude des marqueurs moléculaires de résistance aux antipaludiques des isolats reçus (compréhension des mécanismes associés et validation par recombinaison homologue),
- suivi de l'efficacité thérapeutique en lien avec l'Unité des Maladies Infectieuses et Tropicales de l'Hôpital de Cayenne et du service de santé des Armées,
- conseil et alerte auprès des autorités sanitaires.

1.2 Organisation du CNR et de ses laboratoires associés

Pour répondre au mieux à ses missions sur l'ensemble des territoires français, le CNR du paludisme est organisé avec un laboratoire coordonnateur et trois laboratoires associés (Tableau 2). Pour plus de visibilité et d'efficacité dans leur organisation, les laboratoires du CNR se sont regroupés en un pôle « **zones non endémiques** » et un pôle « **zones endémiques** » (cf §1.1).

L'organisation des activités a été définie en fonction des expertises de chaque laboratoire et/ou de leur implantation géographique (Tableau 2).

Tableau 2 : Organisation schématique et activités au sein du CNR du Paludisme

CNR du Paludisme Coordinatrice Sandrine Houzé Coordinatrice adjointe Lise Musset			
Pôle Zones non endémiques			
Nord-Centre hexagone	Epidémio	Sud hexagone	
		Pôle Zones endémiques	
		Mayotte	Guyane
Laboratoire coordonnateur AP-HP Bichat Paris	Laboratoire associé AP-HP Pitié-Salpêtrière Paris	Laboratoire associé IRBA Marseille	Laboratoire associé IPG Cayenne
Sandrine Houzé Coordinatrice Responsable	Marc Thellier Responsable	Bruno Pradines Responsable	Lise Musset Coordinatrice adjointe Responsable
<p style="text-align: center;">BIOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Expertise diagnostique (Paludisme, Babésia) - Surveillance du risque transfusionnel - Résistance aux antipaludiques - 80% Phénotypage - 100% Génotypage - Cryoconservation - Expertise sérologique (dons de sang, dons d'organes, ...) <p style="text-align: center;">EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Phylogénie sur génome entier <p style="text-align: center;">CONSEILS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Participation aux groupes d'experts nationaux 	<p style="text-align: center;">CLINIQUE & BIOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Accès graves</u> : conseils thérapeutiques, informations sur l'ATU artésunate IV (AIV), surveillance des effets indésirables de l'A IV en lien avec les centres de pharmacovigilances et l'ANSM, contrôle parasitémie et pitémie en cytométrie de flux, prédiction de la PADH (J2-J4). <p style="text-align: center;">EPIDEMIOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Surveillance France métropolitaine <p style="text-align: center;">CONSEILS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Participation aux groupes d'experts nationaux 	<p style="text-align: center;">BIOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Expertise diagnostique - 20% Phénotypage - 20% Génotypage - Nouveaux marqueurs de résistance - Dosages plasmatiques - Cryoconservation <p style="text-align: center;">EPIDEMIOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Surveillance des pays en zone tropicale d'intérêt 'militaire' <p style="text-align: center;">EXPERTISE ENTOMOLOGIQUE</p>	<p style="text-align: center;">BIOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Expertise diagnostique - Caractérisation du risque par dépistage actif - Phénotypage - Marqueurs moléculaires de résistance - Cryoconservation - Expertise d'isolats étrangers <p style="text-align: center;">EPIDEMIOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Analyse tendancielle annuelle en lien avec SPF en région. <p style="text-align: center;">CONSEILS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Participation aux groupes d'experts locaux et internationaux

AP-HP : Assistance Publique Hôpitaux de Paris ; IRBA : Institut de Recherche Biomédicale des Armées ; IPG : Institut Pasteur de la Guyane.

Ressources humaines

La coordonnatrice du CNR Paludisme est Sandrine Houzé, PU-PH, chef du service de Parasitologie-Mycologie, et responsable du laboratoire coordonnateur qui est installé à l'hôpital Bichat, qui appartient au groupe hospitalier AP-HP.Nord.

La coordination adjointe est assurée par Lise Musset, responsable du Pôle « zones endémique » et du laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de la Guyane, responsable également du centre collaborateur OMS pour la surveillance des résistances aux antipaludiques.

Laboratoire coordonnateur de parasitologie de l'Hôpital Bichat

- **Sandrine Houzé**, biologiste-parasitologue PU-PH (Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (APHP) -Université Paris Descartes (UPD)), coordonnateur du CNR Paludisme, membre du comité coordination et du comité de pilotage du CNR Paludisme, animation du réseau de correspondants du Pôle zones non endémiques, évolution de la base Voozаноо de recueil des cas des paludisme, mise à jour du site Internet <https://cnr-paludisme.fr/>, contrôle du diagnostic des isolats transmis, évaluation des dispositifs médicaux et des méthodes diagnostiques, responsable des études génomiques (étude des résistances, diagnostic d'espèce par biologie moléculaire),

responsable des biothèques, coordination des protocoles au laboratoire, responsable assurance qualité du laboratoire, analyse et rédaction du rapport, (15% de son activité hospitalière, financement SPF),

- **Sandrine Cojean**, parasitologue scientifique MCU (Université Paris Saclay), membre du comité de pilotage du CNR Paludisme, responsable de l'étude *in vitro* des résistances de *P. falciparum* et de l'analyse des données des isolats transmis au CNR Paludisme, responsable de l'adaptation en culture des isolats (30% de son activité, financement SPF),

- Quatre ingénieures de recherche, contractuels, **Véronique Sarrasin** (conseiller en radioprotection), **Azza Bouzayenne**, **Théana Fassier**, et **Gaëlle Berté**, assurant le contrôle diagnostique des isolats reçus, la réalisation des tests génomiques, l'étude *in vitro* des résistances, la mise en culture des isolats, la cryoconservation des isolats, la réalisation des tests génomiques, et la mise en place des nouveaux marqueurs de résistance ou de génotypage selon les procédures validées par les laboratoires associés de l'IRBA ou de l'IPG (100% de leur activité, financement SPF).

- Une technicienne en recherche clinique, **Souad Bani**, recueillant les données complémentaires, rappelant aux correspondants les dossiers à compléter, (25% de son activité, financement SPF),

- Un attaché de recherche clinique, **Roger Wumba**, assurant le contrôle des données épidémiologiques, cliniques, diagnostiques et thérapeutiques saisies sur les déclarations, assurant le retour des résultats aux correspondants et aux laboratoires demandeurs sur les échantillons transmis, participant à l'analyse des données (100% de son activité financement SFP),

- Un étudiant en master 2 (ANSP), assurant au cours de son stage de Master 2, un travail de développement en relation avec les missions du CNR Paludisme (financement SPF),

- Une cadre de santé, assurant l'encadrement des personnels et la gestion des commandes, (30% de son activité, financement APHP),

- Dr **Valentin Joste**, biologiste- parasitologue AHU (APHP-UPC), membre du comité de pilotage du CNR Paludisme, participation à l'expertise diagnostique et à l'analyse des données des isolats transmis au CNR Paludisme, (collaboration non rémunérée par le CNR, APHP)

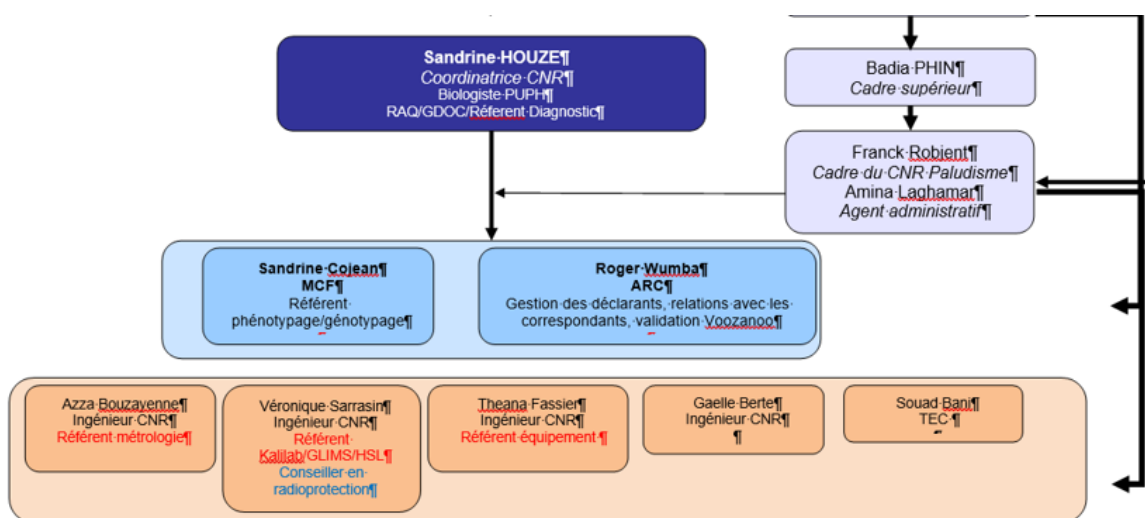


Figure 2 : Organigramme du laboratoire coordinateur Bichat.

Laboratoire associé de parasitologie-mycologie de l'Hôpital de la Pitié-Salpêtrière

- **Dr Marc Thellier**, médecin-parasitologue MCU-PH (UPMC, AP-HP, UMRS 1136 iPLESP), responsable du laboratoire associé PSL ; surveillance épidémiologique des cas de paludisme ; conseils thérapeutiques ; expertise des cas pour la clinique ; conseils et expertise pour la biologie ; traitement des données, analyse des données, rédaction du rapport ; développement et animation du site Internet ; organisation de la réunion nationale ; animation du réseau de correspondant du pôle "Zones non endémiques" ; expertise pour les groupes de travail, pour les sociétés savantes ; protocoles thérapeutiques ; surveillance, en lien avec l'ANSM de la mise à disposition de l'artésunate intraveineux dans le cadre d'une ATU de cohorte ; expertises pour le HCSP, membre du groupe de travail sur les recommandations sanitaires pour les voyageurs, validation biologique.

- **Dr Ilhame Tantaoui**, pharmacienne, cheffe de projet : projet SeMaFor severe malaria force réseau d'experts pour la prise en charge initiale et le suivi des patients avec un accès grave, gestion du circuit des échantillons, expertise microscopique, responsable des techniques de cytométrie en flux (pitting), développement de techniques, validation de méthodes, activité de recherche transversale sur le diagnostic du paludisme (microscopie automatisée et IA, jumeau optique) et la physiopathologie de la PADH, validation biologique. Participation à la rédaction du rapport annuel du CNR du paludisme.

- **Dr Frédérick Gay**, médecin-parasitologue MCU-PH (UPMC, AP-HP, UMRS 1136 IPLESP), analyses épidémiologiques spécialisées, chargé des cas pédiatriques, animation du groupe paludisme chez l'enfant, paludisme et grossesse, traitement et analyse des données, rédaction du rapport, conseils thérapeutiques, expertise des cas pour la clinique ; conseils et expertise, pour la biologie ; protocoles thérapeutiques, activité de recherche transversale, validation biologique.

Dr Cécile Nabet, pharmacienne, parasitologue, (MCU-PH)

- **Dr Jean Yves Brossas**, ingénieur de recherche AP-HP, Docteur ès sciences, activité de recherche transversale sur le diagnostic du paludisme (microscopie automatisée et IA, jumeau optique, cytométrie en flux), développement de techniques, validation de méthodes, études sur la physiopathologie de l'accès grave et l'anémie post artésunate (PADH).

- **Dr Feriel Touafek**, pharmacienne, biologiste médicale, PH, (AP-HP), référente qualité

- **Pr Renaud Piarroux**, PU-PH chef de service du laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'Hôpital Pitié-Salpêtrière, pour les travaux d'expertise et de recherche associés, en particulier pour le développement de la reconnaissance d'images en IA.

- **M. Abdel Nasser Mamoudou Ali**, technicien, pour l'enregistrement des demandes, la réalisation des techniques de pitting, l'expertise des lames (identification d'espèces, parasitémie), la saisie des résultats, le développement technique et les validations de méthodes.

- **Mme Ayawovi Arlène Jessicka Medimagh**, ingénieure junior, pour la gestion de la base de données, la participation au projet SeMaFor, la réalisation des techniques de pitting, l'expertise des lames (identification d'espèces, parasitémie), la saisie des résultats, le développement technique et les validations de méthodes. Participation à la rédaction du rapport annuel du CNR du paludisme.

- **Mme Madone Mandina**, attachée de recherche clinique, pour la gestion de la base de données, la participation au projet SeMaFor, la collecte de données et l'analyse des patients décédés.

- **Mme Maelle Gabelus**, biostatisticienne, correction de la base de données, analyse de données, participation à la rédaction du rapport annuel du CNR du paludisme.

- **Pr Stéphane Jauréguiberry**, médecin-infectiologue, PU-PH chef de service du service des maladies infectieuses du Kremlin-Bicêtre (AP-HP, Inserm UPMC, UMRS 1136 iPLESP), conseils thérapeutiques, expertise des cas pour la clinique : cas graves, protocoles thérapeutiques, activité de recherche transversale sur la physiopathologie de l'accès grave, surveillance, en lien avec l'ANSM, de la mise à disposition de l'artésunate iv dans le cadre d'une ATU de cohorte

- **Pr Pierre Buffet**, et son équipe de recherche (dont le **Dr Alioune NDour**) médecin-parasitologue-infectiologue PU-PH (AP-HP, BIGN Biologie intégrée du globule rouge UMRS 1134, GR-EX), conseils thérapeutiques, expertise des cas pour la clinique : cas graves, protocoles thérapeutiques (surveillance de l'artésunate IV en ATU dans les accès graves), activité de recherche transversale sur la physiopathologie de l'accès grave et de l'anémie post-artésunate, (séquestration des globules rouges, filtre splénique), surveillance, en lien avec l'ANSM de la mise à disposition de l'artésunate intraveineux dans le cadre d'une ATU de cohorte

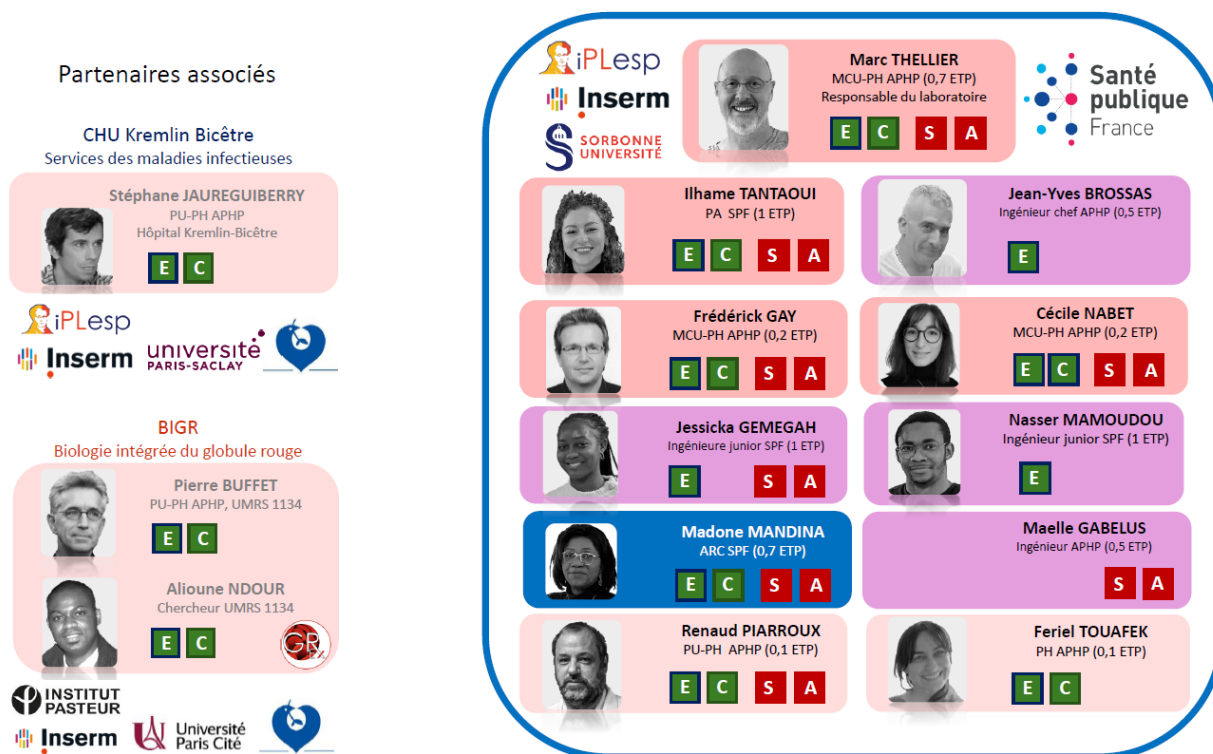


Figure 3 : Organigramme du laboratoire associé Hôpital Pitié-Salpêtrière.

En rouge les médecins et pharmaciens, en bleu les techniciens, en violet les ingénieurs et biostatisticiens.

Laboratoire associé IRBA

- **Bruno Pradines**, (Unité Parasitologie et entomologie, Département Risques vectoriels, IRBA), pharmacien-chef de l'Unité Parasitologie et entomologie de l'IRBA et chef de l'Equipe « Paludisme et vecteurs » de l'Unité RITMES (Risques infectieux tropicaux et microorganismes émergents), Aix-Marseille Univ, SSA, AP-HM, Institut hospitalo-universitaire Méditerranée Infection, directeur adjoint de RITMES, responsable du laboratoire associé IRBA, membre du comité de coordination du CNR Paludisme, participation à l'analyse et à la rédaction du rapport, responsable de l'évaluation des méthodes de diagnostic, du phénotypage, de l'adaptation à la culture et de la cryoconservation des isolats, de la surveillance de l'efficacité thérapeutique des antipaludiques et de la surveillance de la résistance dans les pays d'intérêt 'militaire' (20% de son activité),
- **Emilie Javelle**, (Unité Parasitologie et entomologie, Département Risques vectoriels, IRBA), correspondant pour Marseille du réseau international Sentinel, médecin infectiologue, gestion des études génomiques (étude des résistances, diagnostic d'espèce par biologie moléculaire), assure la liaison avec les cliniciens, en charge suivi des échecs cliniques (20% de son activité),
- **Nicolas Taudon**, (Unité Développements analytiques et bioanalyse, Département des Services, IRBA), pharmacien et chef de l'unité de toxicologie, membre du comité de pilotage du CNR Paludisme, responsable des dosages des antipaludiques, (10% de son activité),
- **Marylin Torrentino-Madamet** (Unité Parasitologie et entomologie, Département Risques vectoriels, IRBA), ingénieure, responsable des études génomiques (étude des résistances, diagnostic d'espèce par biologie moléculaire), responsable des biothèques, assurant la gestion consommables et mise en place de la qualité ainsi que le suivi administratif des dossiers (60% de son activité),
- **Mylène Penot** (Unité Développements analytiques et bioanalyse, Département des Services, IRBA), ingénieure assurant la mise en œuvre des dosages et le développement de nouvelles méthodes (30% de son activité),
- **Hervé Bogreau** (Unité Parasitologie et entomologie, Département Risques vectoriels, IRBA), chercheur, mise en œuvre identification génétique (5% de son activité),

- **Rémy Amalvict** (Unité Parasitologie et entomologie, Département Risques vectoriels, IRBA), technicien, assurant la mise en œuvre des tests *in vitro* (entretien et culture des clones de référence et des isolats, révélation des tests, analyse des données, gestion consommables et mise en place qualité, validation des lots de plaques), le diagnostic par biologie moléculaire et la préparation des lots de plaques ainsi que le suivi administratif des dossiers (30% de son activité),
- **Nicolas Benoit** (Unité Parasitologie et entomologie, Département Risques vectoriels, IRBA), technicien, assurant la mise en œuvre des tests *in vitro* et des techniques de biologie moléculaire dans la cadre de la recherche de nouveaux marqueurs de résistance, le diagnostic par biologie moléculaire et la préparation des lots de plaques ainsi que le suivi administratif des dossiers (50% de son activité),
- **Isabelle Fonta** (Unité Parasitologie et entomologie, Département Risques vectoriels, IRBA), technicien et responsable qualité, assurant la mise en œuvre des tests *in vitro* et la préparation des lots de plaques ainsi que le suivi administratif des dossiers (50% de son activité),
- **Joel Mosnier** (Unité Parasitologie et entomologie, Département Risques vectoriels, IRBA), technicien, assurant la mise en œuvre des tests *in vitro* et la préparation des lots de plaques ainsi que le suivi administratif des dossiers (60% de son activité),
- **Cyril Linard** (Unité Développements analytiques et bioanalyse, Département des Services, IRBA), technicien, assurant la mise en œuvre des dosages (30% de son activité),
- **Sébastien Briolant**, (Unité Parasitologie et entomologie, Département des Maladies Infectieuses, IRBA), médecin en chef, adjoint au chef d'unité de parasitologie et d'entomologie, responsable des activités d'entomologie, pourra intervenir en cas d'évaluation entomologique de cas de paludisme autochtone,
- **Lionel Almeras**, (Unité Parasitologie et entomologie, Département des Maladies Infectieuses, IRBA), scientifique, responsable des activités d'identification par technique MaldiToff des vecteurs en entomologie, pourra intervenir en cas d'évaluation entomologique de cas de paludisme autochtone,
- **Nicolas Gomez**, (Unité Parasitologie et entomologie, Département des Maladies Infectieuses, IRBA), technicien et responsable métrologie, pourra intervenir en cas d'évaluation entomologique de cas de paludisme autochtone.

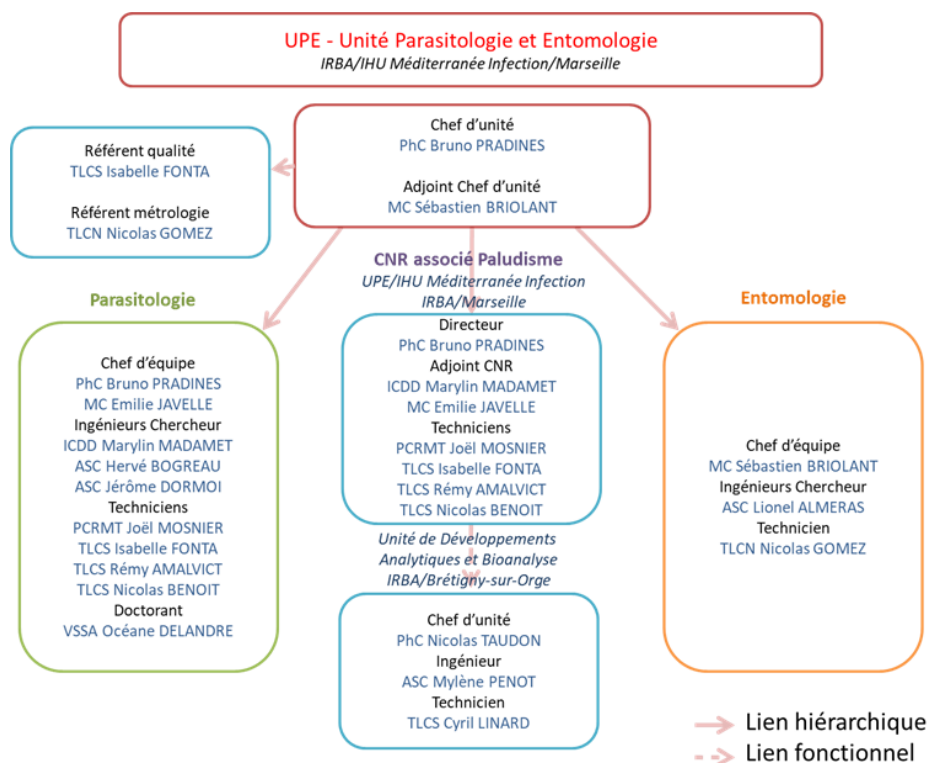


Figure 4 : Organigramme du laboratoire associé IRBA.

Pôle Zones endémiques : Laboratoire associé de l'Institut Pasteur de la Guyane

Le laboratoire de parasitologie qui héberge le Pôle Zones endémiques est composé de six personnes dont cinq assurent quotidiennement le fonctionnement de ce pôle. La part financière complémentaire nécessaire au financement de ces personnes et de celle des autres unités impliquées est assumée par l'Institut Pasteur de la Guyane ou leurs institutions de rattachement.

Sont impliqués (Figure 5) :

- **Lise Musset** (lise.musset@pasteur.fr), pharmacien, parasitologue, coordinatrice adjointe du CNR, responsable scientifique du Pôle « zones endémiques » du CNR Paludisme, du laboratoire de parasitologie, et du centre collaborateur de l'OMS pour la surveillance des résistances aux antipaludiques, responsable du suivi du paludisme en Guyane.

Pour le Pôle « zones endémiques » : relation avec les correspondants Guyane, plateau des Guyanes/Amazonie (missions de sensibilisation, organisation de la rétro-information); caractérisation des foyers de transmission; participation au groupe de travail associant les autorités locales et les différents acteurs impliqués dans l'élimination du paludisme en Guyane et dans les pays frontaliers ; évaluation des techniques diagnostiques en lien avec les correspondants locaux ; étude *in vitro* des résistances ; étude *in vivo* de l'efficacité thérapeutique ; recherche et validation de marqueurs moléculaires de résistance, adaptation d'isolats à la culture cellulaire ; biothèque ; analyse et rédaction du rapport d'activité annuel ; gestion des aspects administratifs liés à la radioprotection (50% de son activité).

- **Yassamine Lazrek Sandot**, ingénieure de recherche, adjointe du LA CNR Paludisme Guyane, correspondante qualité du laboratoire de parasitologie. Dans le cadre du CNR Paludisme, relation avec les correspondants Guyane et plateau des Guyanes (missions de sensibilisation) ; participation aux réunions avec les autorités locales ; participation aux études génomiques des résistances, développement et évaluation de nouvelles méthodes diagnostic, analyse et rédaction du rapport d'activité annuel, suivi de la démarche d'accréditation et du système de management de la qualité au sein du laboratoire ; gestion des aspects techniques liés à la radioprotection (90% de son activité).

- **Célia Florimond**, ingénieure de recherche. Dans le cadre du CNR Paludisme, étude *in vitro* des résistances, étude *in vivo* de l'efficacité thérapeutique, caractérisation des mécanismes de résistance et l'évolution des populations plasmodiales, recherche de marqueurs moléculaires de résistance, analyses statistiques, adaptation d'isolats à la culture cellulaire, biothèque, déploiement de projets de recherche en santé publique lien direct avec l'élimination du paludisme en Guyane, analyse et rédaction du rapport d'activité annuel, suivi de la démarche d'accréditation et du système de management de la qualité au sein du laboratoire (90% de son activité).

- **Béatrice Volney**, correspondante équipement et métrologie, technicienne d'analyse assurant la réception et le contrôle diagnostique des échantillons reçus, la mise en œuvre des tests *in vitro* ainsi que leur analyse, la culture des clones de référence et des isolats, les contrôles qualités des différentes techniques de culture cellulaire utilisées au laboratoire ; le fonctionnement du système de management de la qualité, le suivi des différents équipements et de la métrologie du laboratoire ; (80% de son activité),

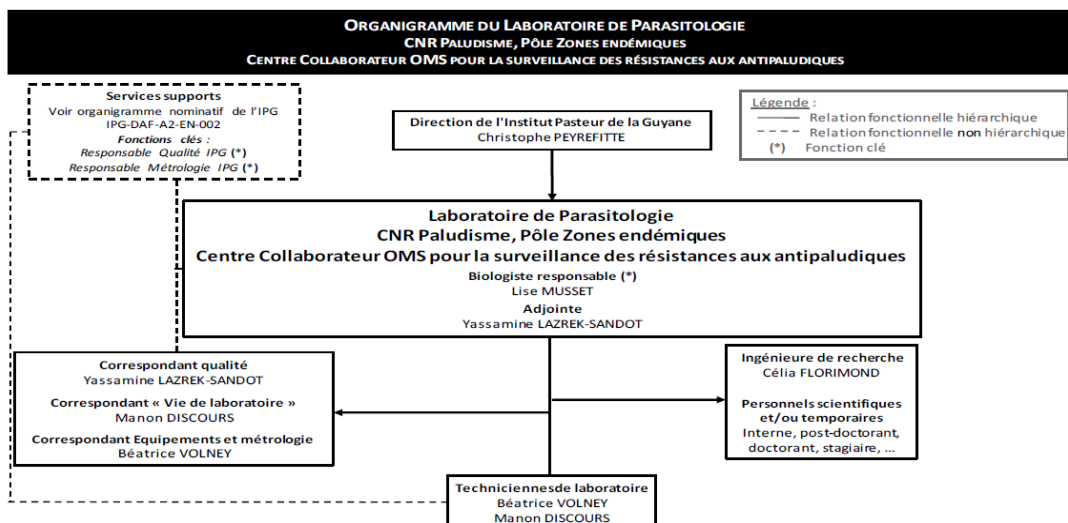
- **Manon Discours**, technicienne d'analyse, préleveuse, correspondante hygiène et sécurité et responsable des collections, assurant le suivi des échantillons collectés dans le cadre du suivi de l'efficacité thérapeutique *in vivo* en relation avec l'Unité des Maladies Infectieuses et Tropicales (UMIT) de l'Hôpital de Cayenne, réalisant les techniques de biologie moléculaire (étude des résistances, diagnostic d'espèce) du laboratoire, les études phénotypiques, la caractérisation des foyers de transmission au cours des campagnes de dépistage actif en prélevant les habitants, les contrôles qualité ; la gestion des stocks de consommables du laboratoire ; le fonctionnement du système de management de la qualité ; (90% de son activité),

- **Anais Angot**, technicienne d'analyse qui remplace Mme Manon Discours sur les mêmes tâches depuis septembre 2024.

Bien que non budgétées sur le Pôle « zones endémiques », des personnes ressources de l'Institut Pasteur de la Guyane seront parties prenantes du fonctionnement du CNR Paludisme :

- les **épidémiologistes de Santé publique France en Guyane** (Luisiane Carvalho) pour des consolidations de données régulières, une analyse annuelle conjointe des tendances de l'endémie et de ses caractéristiques épidémiologiques en Guyane,
- **Pr Félix Djossou**, médecin infectiologue responsable de l'UMIT de l'Hôpital de Cayenne pour l'analyse clinico-biologique fine des dossiers des patients dans le cadre du suivi de l'efficacité thérapeutique *in vivo* UMIT/CNR en place.

- **Christelle Prince**, infirmière financée par l'ARS et chargée du suivi des cas graves sur le département en lien avec les trois hôpitaux du territoire.
- **L'unité informatique** pour la gestion et la maintenance de la base de données propre au Pôle ZE permettant de référencer les échantillons reçus, les informations et les résultats d'analyses qui les accompagnent ainsi que tout l'équipement informatique détenu au laboratoire.
- **Le bioinformaticien** de l'IPG pour le développement de méthode de génotypage haut débit (ex: caractérisation gène entier G6PD humaine).
- **Les unités HSE et qualité** dans le cadre de la norme NF EN ISO 15189 et des normes d'hygiène et de sécurité.



Source PAR-COMM-A2-EN-002

Figure 5: Organigramme du laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de la Guyane.

1.3 Locaux et équipements

Laboratoire coordonnateur de l'hôpital Bichat

Par convention signée en 2009 avec l'hôpital Bichat, HUPNVS, AP-HP, l'Institut de Médecine et d'Epidémiologie Appliquée (IMEA) met à disposition du CNR Paludisme un laboratoire d'une superficie de 300 m² répartie en six pièces. Une pièce est dédiée à la culture des isolats (deux postes de travail, deux Postes de Sécurité Microbiologique (PSM), un incubateur à atmosphère régulée en dioxygène (O₂) et dioxyde de carbone (CO₂), deux microscopes, équipement ELISA et fluorimètre. Une pièce est dédiée à la culture des isolats en milieu radioactif (un poste de travail, un PSM, un incubateur avec chambre à O₂ et CO₂ contrôlés, un ensemble collecteur de cellules et compteur à scintillation). Une pièce est dédiée à la préparation des milieux avec une hotte de préparation à flux laminaire et un diluteur pour la préparation des plaques pré-dosées en antipaludiques pour l'étude des chimiosensibilités. En biologie moléculaire, deux pièces sont dédiées à la préparation et à l'obtention des amplicons (un poste de travail, thermocycleurs, automate d'extraction d'ADN, PCR temps réel (ViiA® 7, Thermo Fischer Scientific) et une pièce est dédiée à l'analyse des amplicons de biologie moléculaire (accès réservé, deux postes de travail). Une pièce noire est dédiée à la lecture des lames en épifluorescence (un microscope à fluorescence). L'ensemble comprend des chambres et armoires de conservation à +4°C, -20°C, -80°C et -196°C et deux bureaux sont dédiés à l'épidémiologie (archivage, moyens informatiques, Internet et téléphone).

Laboratoire associé de l'hôpital Pitié - Salpêtrière

L'Hôpital Pitié-Salpêtrière met à disposition du CNR du Paludisme site PSL environ 135 m² de surfaces de locaux au premier étage du Pavillon Laveran. Ces surfaces sont réparties en 40 m² de surface bureaux, 80 m² de surface de laboratoire, 8 m² de surface de stockage/réserve et 7 m² de surface de détente. La partie bureau inclut un espace d'archives.

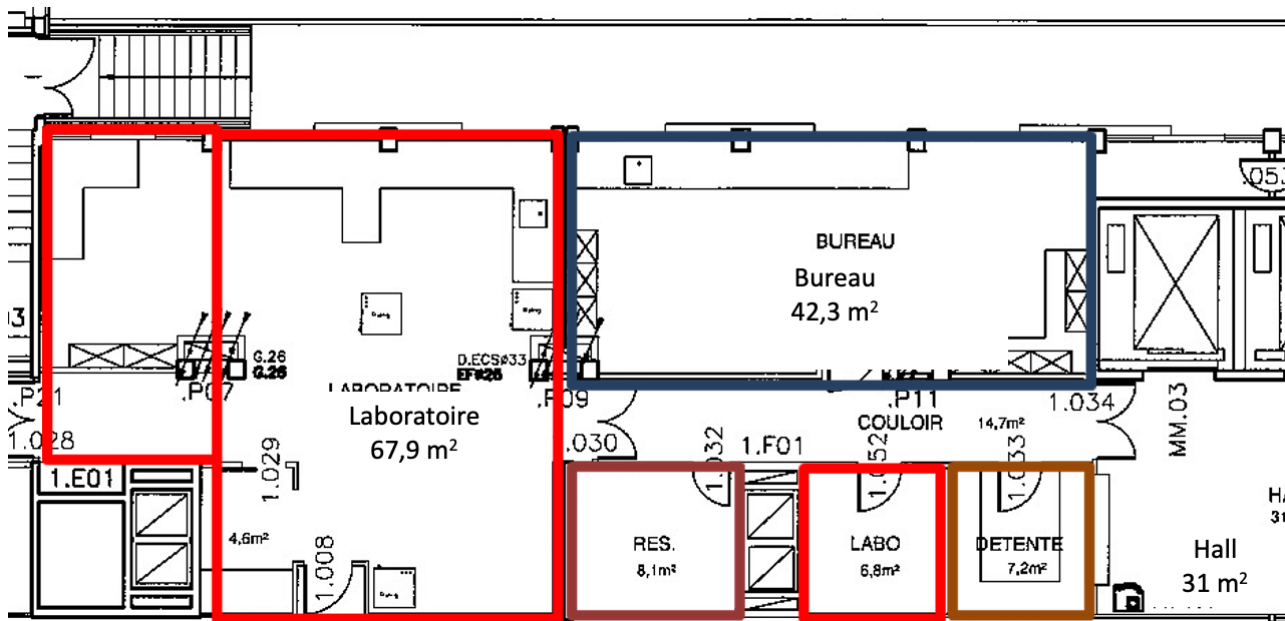


Figure 6 : CNR du Paludisme Hôpital Pitié-Salpêtrière, Pavillon Laveran 1er étage, plan des locaux

Principaux équipements.

Équipement informatique pour les analyses épidémiologiques : 6 ordinateurs de bureau 2 acquis en 2018 et 4 en 2023 avec des disques de grande capacités (>1To) et au moins 8 go de mémoire vive, deux ordinateurs portables, 1 acquis en 2016, 1 en 2023 ; des disques durs de sauvegardes mobiles et fixes de grande capacité (> 1 To), les logiciels de dernière génération, pour les analyses statistiques et la cartographie (STATA, SAS, Stat Transfert, Jump, Arctique Suite « cartes et données » ...), des imprimantes (2-3 ans), une connexion haut débit, les logiciels courants actualisés pour la bureautique. Téléphone, Fax et visioconférence (une salle de 30m² accessible sur simple demande).

Équipement pour les analyses biologiques, trois postes de travail, un PSM, un incubateur CO₂, un automate ELISA, cinq microscopes (dont un trois têtes avec capture d'images acquis en 2015 et un OT4D pour l'analyse d'images en IA), deux appareils Genie II pour les techniques de biologie moléculaire LAMP et un cytomètre de flux Cytotflex (mesure du pitting). L'ensemble est équipé de chambres et armoires de conservation +4 °C, -20 °C et -80°C (au sous-sol du bâtiment équipé d'une sonde de surveillance pour générer des alertes en temps réel). Un conteneur de grande dimension est spécialement dédié pour la cryoconservation des isolats en azote liquide (local spécifique au 5ème étage du même bâtiment).

Sont également disponibles dans les structures de support (équipes de recherche en lien direct avec le CNR) les différentes plateformes de l'unité Immunité et Infection - INSERM/UPMC UMRS 945 :

- ✓ Plateforme de cytométrie mise à disposition par le département d'Immunologie de la Pitié-Salpêtrière/Charles Foix d'un cytomètre analyseur BD FACS Canto™ II (BD Biosciences) équipé de trois lasers (488nm-633nm-405nm) permettant l'analyse simultanée de 8 fluorescences.
- ✓ Plateforme de Protéomique incluant différentes techniques de spectrométrie de masse supervisée par le Pr Olivier Silvie
- ✓ Un insectarium pour notamment la production de gamétocytes dans le but d'initier, développer et maintenir des colonies de moustiques de l'espèce *Anopheles stephensi* (Cf la partie recherche) supervisée par le Pr Olivier Silvie

- ✓ Une animalerie exempte d'agents pathogènes spécifiés : souris humanisées.

Du matériel spécialisé pour l'étude du globule rouge parasité ou non dans les locaux de l'équipe du Pr Pierre Buffet au laboratoire d'excellence GR-EX :

- ✓ Un microscope à contraste de phase et contraste interférentiel « Nomarski »,
- ✓ Un cytomètre en flux de type Accuri 6,
- ✓ Une technique de filtration sur microplaques des globules rouges à travers des couches de microsphères.

Laboratoire associé IRBA

A partir du 1^{er} octobre 2017, l'Unité Parasitologie et entomologie a déménagé au sein de l'Institut Hospitalo-Universitaire en infectiologie de Marseille et dispose d'un laboratoire de type NSB2 de 170 m² comprenant deux pièces destinées à la culture parasitaire avec trois postes de travail (3 PSM, 4 incubateurs à atmosphère régulée en oxygène (O₂) et dioxyde de carbone (CO₂), une pièce de préparation des lots de plaques (1 PSM, automate de distribution), une pièce destinée à la sérologie (lecteur ELISA, Multiplexage), une pièce destinée à la mise en œuvre des techniques de biologie moléculaire (PSM, appareil PCR, PCR temps réel dont 3 CFX96) et d'une animalerie ; l'Unité Parasitologie et entomologie possède des moyens de conservation à basse température (congélateurs -20°, congélateurs -80°C, congélateurs -152°C) ; des collections d'échantillons biologiques et de réactifs ; des moyens informatiques. Toutes les enceintes soumises à une température (congélateur -80°C et -20°C, réfrigérateur à 4°C, incubateur à 37°C) sont contrôlées par une centrale informatisée.

L'Unité Parasitologie et entomologie aura aussi accès à des plateformes communes : plateforme de séquençage (Illumina, Minlon, Promethlon...), plateforme de protéomique (MaldiToff), plateforme de microscopie (2 microscopes électroniques), insectarium, laverie.

Laboratoire NSB2/3 Parasitologie SSA (170 m²)

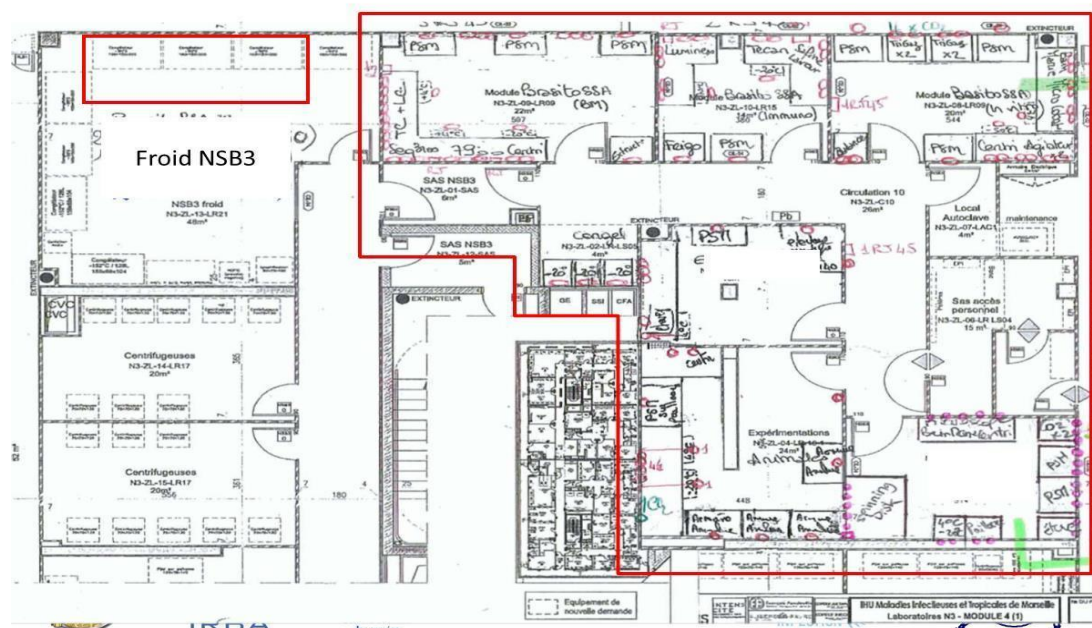


Figure 7 : Plan du laboratoire NSB2/3 de l'Unité Parasitologie et entomologie

L'Unité Développement analytiques et bioanalyse à Brétigny est constituée d'environ 300 m² de laboratoire situé au niveau du 2^{ème} étage du bâtiment abritant les laboratoires dits "standards" de l'IRBA. Les pièces constitutives sont réparties de la façon suivante: une pièce de stockage : petits consommables et produits chimiques poudre ; une pièce de réception : sectorisation pour la réception et l'enregistrement des prélèvements biologiques et des produits chimiques ; une laverie : système de production d'eau de niveau II alimentant un laveur ; une salle de pesée : contenant 3 balances de précision couvrant un intervalle de pesée allant du mg au kilo ; 4 salles de préparation et prétraitement d'échantillons : organisées selon les matériels contenus, ces salles

permettent de sectoriser la préparation des échantillons avant analyse (l'une d'elle contient un système de production d'eau ultra pure ainsi qu'une armoire ventilée permettant le stockage de produits chimiques volatils) ; 4 salles d'analyse chromatographique : sectorisation selon le type de matériel ; 1 salle de retraitement des données : abrite un serveur en lien avec certains systèmes d'analyse. L'ensemble des pièces dédiées à la réception, préparation et analyse des échantillons ainsi que les moyens froids critiques et la salle de pesée font l'objet d'un suivi de température centralisé. Pour cette dernière pièce, un suivi de l'hygrométrie est également assuré. Une sauvegarde journalière ainsi qu'un archivage mensuel sont assurés.

Pôle Zones endémiques : Laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de la Guyane

Le laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de Guyane met à la disposition du Pôle « zones endémiques » du CNR Paludisme un étage entièrement dédié aux activités relatives au paludisme. Ces 184 m² divisé en neuf secteurs ont été entièrement rénovés en 2012 :

- au deuxième étage du bâtiment (Figure 8):
 - un Laboratoire de Sécurité Biologique de niveau 2 de 23 m² (pièce 502a et 502b), servant à la culture cellulaire des plasmodies, aux examens microscopiques et à l'extraction d'ADN. Le laboratoire est équipé de deux PSM de niveau 2, d'un réfrigérateur et d'un congélateur (-20°C), d'une hotte chimique, de deux bains marie, de deux centrifugeuses, de deux microscopes, d'un électroporateur et d'un incubateur à atmosphère régulée en oxygène pour permettre une croissance optimale des parasites en culture et surtout l'adaptation *in vitro* de *Plasmodium falciparum* récemment isolés de patients,
 - une pièce de préparation de 6m² (506), dédiées à la préparation des mélanges réactionnels pour la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) équipée d'un congélateur (-20°C),
 - une pièce polyvalente (amplification/préparation) (507), permettant la distribution des ADN dans les mélanges réactionnels, la préparation des milieux de culture et le dosage des acides nucléiques. Le laboratoire est équipé d'une centrifugeuse réfrigérée, de trois thermocycleurs, d'un spectrophotomètre (Nanodrop®), deux agitateurs magnétiques, d'un pH-mètre, d'une balance analytique, d'une balance classique pour la pesée des produits chimiques, de trois congélateurs (-20°C) contenant notre collection d'isolats,
 - une pièce post amplification de 14 m² (508), équipée d'une enceinte PCR permettant le transfert des mélanges réactionnels pour la réaction de polymérisation en chaîne (PCR), d'une table à ultraviolets permettant la visualisation sous ultra-violet des bandes d'ADN présentes sur les gels d'agarose, de deux générateurs et d'un congélateur (-20°C) et de deux combinés (-20°C et 4°C),
 - trois zones de stockage des consommables (pièces 500a, 500c et 500d),
 - trois bureaux d'une superficie de 52m² au total pouvant accueillir jusqu'à dix personnes,
 - des sanitaires,
 - un espace archives de 7m² sécurisé permettant de respecter les exigences de confidentialité en biologie médicale.
- au rez-de-chaussée (Figure 9):
 - une pièce de 13m² zonée, type LSB2, où sont manipulés et stockés les radioéléments. Cette dernière est équipée d'un PSM2, d'un incubateur à atmosphère régulée en gaz carbonique et oxygène pour permettre une incubation optimale des tests de phénotypage, un compteur à scintillation, un collecteur de cellule, un réfrigérateur et un congélateur (-20°C).
 - une pièce de 3m² dédiée au stockage des déchets radioactifs,
 - un plateau technique partagé doté :
 - d'un analyseur génétique permettant le séquençage de fragments d'ADN ainsi que l'analyse de marqueurs microsatellites,
 - de quatre appareils de PCR en temps réel,
 - d'un lecteur fluorimètre/luminomètre,

- d'un système automatisé d'extraction d'ADN,
- une chambre froide de 4 m² où sont stockés les containers d'azote permettant de conserver la collection de parasites adaptés à la multiplication in vitro et les souches de référence (6 containers d'azote),
- une salle commune des congélateurs -80°C (24m²) avec nos deux -80°C,
- une centrale de gaz (6m²) permettant d'acheminer les gaz (azote et CO₂) aux incubateurs à partir de bouteilles stockées au rez-de-chaussée à l'extérieur du bâtiment.

En termes d'équipement informatique, le laboratoire de parasitologie dispose de cinq ordinateurs de bureau et quatre ordinateurs faisant fonctionner un équipement spécifique pour chacun. Il dispose aussi de stockage suffisant permettant de stocker et sauvegarder des données de génomes entiers en miroir dans deux bâtiments séparés.

Le laboratoire de parasitologie a également accès à la plateforme de séquençage de l'Institut Pasteur à Paris, Biomix qui dispose des séquenceurs dernière génération et très haut débit. Cela permet de séquencer à moindre cout nos isolats pour les études épidémiologiques et des résistances.

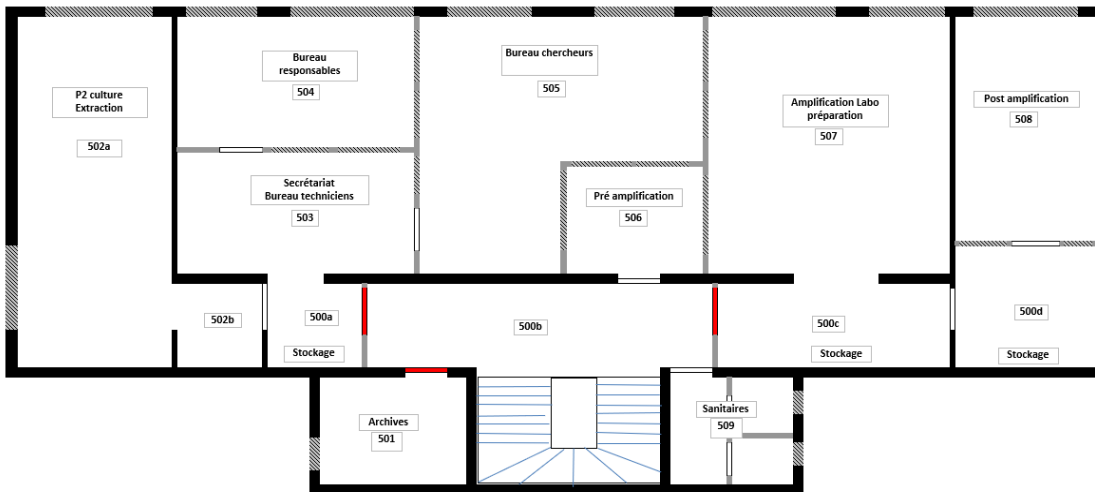


Figure 8 : Plan du deuxième étage mis à disposition du laboratoire de parasitologie.
1 carreau = 0,1m

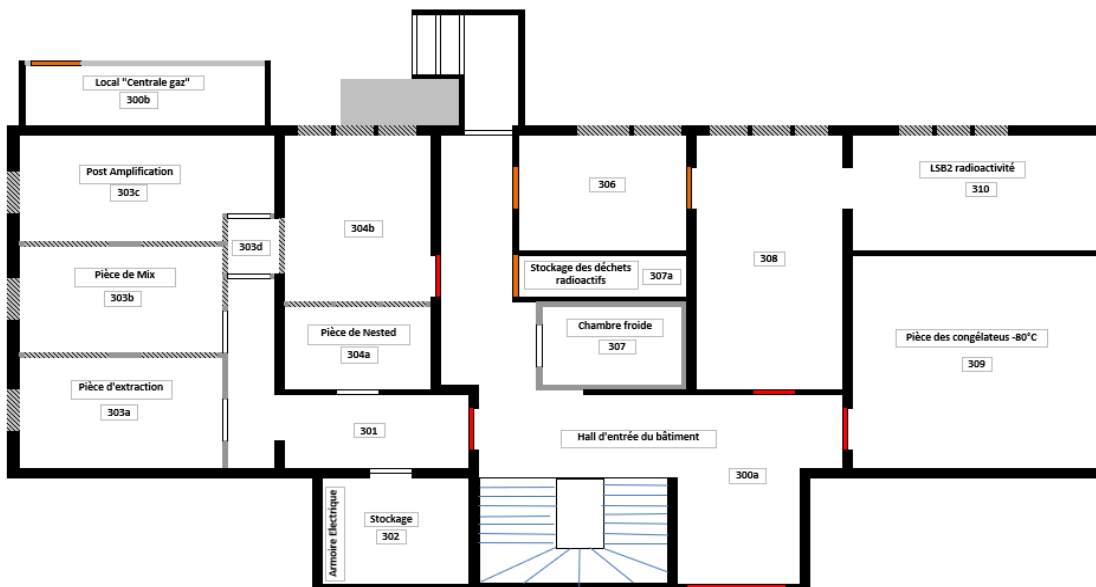


Figure 9 : Plan du rez-de-chaussée en partie est mis à disposition du laboratoire de parasitologie.
1 carreau = 0,1m

1.4 Collections de matériel biologique

Cf Annexe 4

1.5 Démarche qualité du laboratoire

Chacun des laboratoires est engagé individuellement ou collectivement dans une démarche qualité.

Le laboratoire coordonnateur de l'hôpital Bichat et laboratoire associé de l'Institut Pasteur de la Guyane

Les laboratoires de l'hôpital Bichat et de l'Institut Pasteur de la Guyane sont accrédités selon la norme ISO 15189 pour le diagnostic du paludisme et l'antipaludogramme. Ces laboratoires participent aux EEQ de l'OMS pour le diagnostic du paludisme par PCR : leurs participations ont toujours été évaluées "A". Respect des bonnes pratiques de laboratoire : toutes les procédures sont rédigées et actualisées semestriellement. Les échantillons transportés par un prestataire contractuel bénéficient d'un enregistrement des températures qui est imprimé à leur arrivée. Les procédures de contrôle de sécurité des collections sont la mise en place de sondes thermiques à + 4°C et -20°C avec enregistrement des températures et alarme, l'enregistrement des températures à -80°C et dans les containers d'azote liquide, le relevé quotidien des paramètres d'incubation de culture (température, humidité, mélange gazeux) et la traçabilité des anomalies.

Laboratoire associé de la Pitié Salpêtrière

Accréditation selon norme ISO 15189 dans le cadre de l'accréditation du Pôle de biologie du CHU Pitié-Salpêtrière. Feriel Touafek, responsable assurance qualité dans le service, a également la charge de cet aspect pour la plateforme Pitié Salpêtrière. Le laboratoire de Parasitologie de l'hôpital Pitié-Salpêtrière a été confirmée dans son accréditation 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). N° accréditation COFRAC : 8-3253, portée flexible. Date de validité du 01/05/2023 au 31/03/2028 : liste des sites et portées disponibles sur le site du Cofrac - <https://www.cofrac.fr>.

Laboratoire associé IRBA

L'unité de recherche Parasitologie et entomologie de l'IRBA, laboratoire associé au centre national de référence du paludisme est certifiée ISO 9001. Le dernier audit de certification de l'unité a été réalisé le 4 avril 2024. Le système managérial de l'unité est audité mais aussi la qualité et la maîtrise des risques (dont la gestion du matériel : contrôle température par sonde de toutes les enceintes thermiques froides ou chaudes (+4°C, -20°C, -150°C, incubateurs à 37°C) avec relais téléphonique, contrôle des gaz par sonde (incubateurs CO₂ et O₂), contrôle annuel des balances niveau accréditation, contrôle annuel des pipettes niveau accréditation...). Bien que l'UPE ne fasse pas de diagnostic en première intention et ne rende pas de résultats à des patients, une de ses missions est l'aide et l'expertise diagnostic des cas de paludisme des correspondants de la région PACA, de Montpellier, de Toulouse et de Bordeaux. A ce titre, l'UPE met en place une procédure d'accréditation NF EN ISO 15189 pour accréditer le diagnostic du paludisme pour les méthodes de recherche et d'identification des parasites par microscopie et par biologie moléculaire. Bruno Pradines est autorisé à exercer la biologie médicale dans son domaine d'expertise au titre du CNR paludisme de par son expérience depuis 1996 après examen par Commission nationale de Biologie médicale.

Tests de phénotypage

- *Clones de références*

Les souches de références de *P. falciparum* (Pf 3D7 et Pf W2), communes aux trois laboratoires du CNR

réalisant des études phénotypiques, utilisés pour valider les lots de plaques d'antipaludiques sont régulièrement depuis 2010 contrôlés génétiquement pour éviter toute dérive (clonalité et identification).

- *Lots de plaques d'antipaludiques*

Pour réaliser les tests de chimiosensibilité *in vitro*, les trois laboratoires travaillent avec les mêmes fournisseurs d'antipaludiques. Les lots de plaques sont contrôlés par au moins un clone de référence (3D7). De plus, les isolats seront caractérisés par leur valeur de concentration inhibitrice 50% (CI₅₀) pour chaque antipaludique considéré mais aussi par le ratio de cette CI₅₀ pour l'antipaludique considéré sur la valeur moyenne de la CI₅₀ pour ce même antipaludique obtenu avec le clone *Pf* 3D7 lors de la validation du lot utilisé. Ceci permet de normaliser les résultats obtenus et de les comparer d'un lot à l'autre au niveau d'un même laboratoire mais aussi entre laboratoires.

1.6 Ethique, protection des données et management de la base

Les données épidémiologiques, biologiques, cliniques et thérapeutiques des cas de paludisme identifiés en zone non endémique sont déclarées par des correspondants volontaires au CNR Paludisme. Les cas des zones endémiques sont déclarés de manière exhaustive aux Cire concernées et les données globales en lien avec les échantillons biologiques reçus en provenance des zones d'endémie sont stockées dans la base spécifique du laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de la Guyane

Les différents composants du système d'information du CNR Paludisme sont détaillés ci-dessous.

Collecte des données et base de données du CNR du Paludisme zones non endémiques

- *Résumé exécutif*

La société Epiconcept assure l'hébergement et la sécurité des données de santé via sa plateforme Voozanoo version 4, en conformité avec les exigences réglementaires françaises et internationales. L'infrastructure bénéficie des certifications ISO/IEC 27001 et HDS, garantissant un haut niveau de sécurité pour le traitement de données sensibles. Les mesures de protection mises en œuvre couvrent l'ensemble du cycle de vie des données i/ hébergement sécurisé en France, avec sauvegardes quotidiennes, réversibilité des données en fin de contrat, et supervision 24h/24 ii/ chiffrement systématique des données au repos, en transit, et lors des sauvegardes, avec usage de TLS pour les échanges et de protocoles sécurisés pour l'administration (SSH, VPN, MFA) iii/ gestion rigoureuse des accès, incluant l'authentification multifacteur, un cloisonnement par projet et des procédures de revue et de révocation des droits iv/ sécurité applicative renforcée, avec authentification forte des utilisateurs (cartes CPS, OTP), complexité exigée des mots de passe et stockage chiffré v/ traçabilité complète, assurée par l'historisation de toutes les actions et commandes, avec centralisation et chiffrement des journaux d'activité et iv/ surveillance en temps réel des infrastructures, avec alertes automatiques et astreinte permanente pour garantir la disponibilité et la performance des services.

Ces dispositifs témoignent de l'engagement d'Epiconcept à garantir la confidentialité, l'intégrité et la disponibilité des données hébergées via Voozanoo 4.

- *Détail des fonctionnalités et des actions engagées*

Les cas déclarés au CNR Paludisme par les correspondants du réseau du CNR du paludisme pôle Zone non Endémique sont gérés par un système de gestion de base de données sécurisé en ligne développé par la société EpiConcept. Epiconcept est une entreprise française fondée en 1996, spécialisée dans le développement de solutions numériques pour la santé publique. Basée à Paris, elle regroupe des informaticiens, médecins, épidémiologistes et data scientists. Dans son infrastructure, EpiConcept propose un logiciel adapté spécifiquement aux besoins de l'utilisateur, accessible sur Internet avec un identifiant et un mot de passe valide, sur son site (<https://cnr-palu.voozanoo.net/palu/>). Cette plateforme permet le recueil, le traitement et l'échange en temps réel de données en provenance des centres collecteurs des cas de paludisme. Epiconcept est certifiée ISO 27001 et Hébergeur de Données de Santé (HDS), garantissant la sécurité et la confidentialité des données de santé. Elle offre des solutions pour la collecte, l'analyse et le stockage sécurisé des données médicales. Ce

système de déclaration en ligne pour la notification des cas de paludisme du CNR du Paludisme a été déclaré à la « Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés » (CNIL) sous le numéro 1223103. En 2019, une nouvelle version du site de déclaration a été développée sous Voozadoo dans sa version 4 afin d'évoluer vers une base « patient ». Des évolutions de cette base de déclaration sont régulièrement réalisées sous la supervision de la coordonnatrice Sandrine Houzé (financement SPF). En octobre 2024, Epiconcept a rejoint le Groupe Softway Medical, renforçant ainsi sa capacité à développer des solutions innovantes en e-santé, épidémiologie et data science. Ce partenariat vise à optimiser la gestion des données de santé et à améliorer la prise de décision dans les politiques publiques de santé.

○ *Le logiciel Voozadoo 4 - Epiconcept*

Voozadoo 4 est une plateforme low code développée par Epiconcept, conçue pour permettre la création rapide et sécurisée d'applications dans le domaine de la santé publique. Elle permet aux utilisateurs, même non-développeurs, de concevoir des systèmes d'information sur mesure pour la collecte, la gestion et l'analyse de données de santé.

1. Conception d'applications sans code (Epicraft)

- Création de formulaires par glisser-déposer.
- Configuration des droits d'accès, contrôles de cohérence, et navigation.
- Gestion des listings, exports et visualisations de données.

2. Modules complémentaires

- MailMerge : génération de documents personnalisés (PDF, Word, HTML).
- EpiFiles : plateforme sécurisée de partage de fichiers entre professionnels de santé.
- Module statistique : intégration de bibliothèques pour analyses statistiques (EpiStats, GADMTools).

3. Interopérabilité et conformité

- Interopérabilité avec des systèmes tels que DMP, RIS, PACS.
- Conformité aux normes HDS et ISO/IEC 27001 pour l'hébergement et la sécurité des données de santé.

4. Fonctionnalités avancées

- Ajout de code XML pour personnalisation.
- Gestion multi-environnement : développement, test, production.

5. Voozadoo Mobile

- Application mobile pour la collecte de données sur le terrain.
- Fonctionnement hors ligne avec synchronisation automatique.
- Support du scan de codes-barres pour saisie rapide et fiable.

6. Cas d'utilisation

- Surveillance épidémiologique.
- Gestion de cohortes et études cliniques.
- Programmes de dépistage ou de vaccination.
- Coordination des soins et gestion de dossiers patients.

○ *Mesures de protection des données – Voozadoo 4 (Epiconcept)*

1. Conformité réglementaire et cadre d'hébergement

- Certification ISO 27001 & HDS : L'hébergement est certifié ISO/IEC 27001 et conforme au référentiel HDS (Hébergement de Données de Santé), garantissant un haut niveau de sécurité et de conformité réglementaire pour les données sensibles.
- Localisation de l'hébergement : Les données sont exclusivement hébergées en France, sur des infrastructures maîtrisées.
- Politique de réversibilité : Une procédure de restitution des données est prévue en fin de contrat.
- Sauvegarde régulière : Les données font l'objet de sauvegardes quotidiennes.

2. Chiffrement des données

- Stockage : Toutes les partitions de données sur les serveurs, ainsi que les sauvegardes, sont chiffrées à l'aide d'algorithmes robustes.
- Transport sur réseaux publics : Les communications entre les utilisateurs et les serveurs sont protégées par le protocole TLS (Transport Layer Security). TLS assure l'authentification du serveur, la confidentialité et l'intégrité des échanges. Sa configuration est régulièrement auditée.
- Transport des sauvegardes : Les sauvegardes sont chiffrées avant transport, et transférées via un canal chiffré dédié.

3. Accès aux systèmes et gestion des identités

- Accès administrateur : Accès via SSH, bastion dédié, authentification multifacteur (carte CPA, clef SSH, VPN SSL), segmentation par projet/équipe, revue régulière des droits.
- Gestion des clefs cryptographiques : Création, stockage et renouvellement encadrés par une procédure stricte, assurés par l'équipe infrastructure.

4. Sécurité applicative

- Authentification des utilisateurs : Accès via HTTPS. Authentification par cartes CPS ou mot de passe à usage unique (OTP). En cas d'authentification par mot de passe, celui-ci doit avoir une entropie > 50 et une complexité minimale.
- Stockage des mots de passe : Les mots de passe sont chiffrés en base de données selon les bonnes pratiques de sécurité (hashing et salage).

5. Traçabilité et journalisation

- Application : Toutes les actions sont historisées avec identifiant, date, opération, et valeur précédente en cas de modification.
- Systèmes et bases de données : Administration en ligne de commande uniquement. Toutes les commandes sont journalisées avec leur sortie. Logs chiffrés et centralisés.

6. Surveillance et supervision

Surveillance temps réel : Surveillance continue des serveurs physiques, virtuels et services. Alertes déclenchées en cas de dépassement de seuils critiques. Astreinte permanente assurée par les administrateurs.

7. Politique de sauvegarde

Sauvegardes quotidiennes conservées trois mois. Supervision du processus et tests de restauration réguliers pour garantir l'intégrité des données.

Gestion des données de la base du pôle Zones non endémiques du CNR Paludisme

La base de données du CNRPalu met en réseau la saisie des fiches de déclaration avec une double finalité. Cette saisie est sécurisée et se fait via Internet par les centres partenaires qui reçoivent en retour une rétro information en ligne concernant les données collectées. La rétro-information comporte deux parties : une première partie constituée par une série de tableaux de bord standards et une seconde qui permet à chaque correspondant de récupérer ses données au format CSV à des fins d'analyses locales. La base comporte un système d'alerte destiné aux responsables du CNRPalu avec des tableaux de bord spécifiques pour la surveillance et le suivi global des cas de paludisme d'importation en France.

Le recueil de données : Il s'intéresse au patient atteint du paludisme diagnostiqué en France métropolitaine et DOM. Une interface Web facilite la saisie des données de cas et des échantillons biologiques. Le module de saisie est basé sur Voozoo dans sa version 4 (voir chapitre Le logiciel Voozoo 4 pour les fonctionnalités). En résumé, l'accès à la base de données se fait par identification et mot de passe et suit une certaine hiérarchisation. Les correspondants n'ont accès qu'aux informations concernant leur centre. Le responsable de chaque laboratoire associé peut avoir accès aux données de ses correspondants. Le CNRPalu est dépositaire de toutes les données par l'intermédiaire d'un administrateur unique.

L'administration. L'administrateur s'occupe de la gestion au quotidien de la base de données (état de la saisie, gestion des comptes utilisateur, création des enquêtes spécifiques, relation avec les correspondants...). Il gère les droits des utilisateurs / Restriction des accès. Une interface dédiée permet l'association d'actions et de droits à des groupes d'utilisateurs (personnel administratif, technicien, biologiste, administrateurs...).

La maintenance. Elle est assurée conjointement par EpiConcept et l'administrateur.

La traçabilité. Journalisation des accès, traçabilité de toutes les actions sur la base de données du type (QUI/QUOI/QUAND), traçabilité des modifications effectuées sur le logiciel et les ressources (versionning)

L'exploitation des données. Les données saisies sont bien sûr destinées à être exportées pour être analysées avec des logiciels statistiques puissants (Stata, SAS, SPSS...) pour des statistiques plus élaborées. Elles sont exportables sous plusieurs formats (données agrégées ou de fichiers à plat anonymisés du type Feuilles Excel, fichier texte, pdf...). La sécurisation des transferts est assurée par le serveur Web (via le protocole https). Le niveau de sécurisation des transferts dépend de la nature des données (individuelles ou agrégées). Les technologies utilisées dans Voozadoo (en particulier l'exploitation native de fichiers Xml) permettent une mise en place naturelle d'interfaces pour un transfert automatique et sécurisé de données standardisées.

La mise à jour des variables recueillies est assurée par le Pr Sandrine Houzé. Le suivi de la collecte de données est assuré par les attachés de recherche clinique du CNR. Les responsables, le Pr Sandrine Houzé, le Dr Marc Thellier, le Dr Bruno Pradines et le Dr Lise Musset, assurent le traitement et l'analyse des données.

Une particularité de l'action de ce CNR est qu'il participe pleinement à la prise en charge médicale des patients avec la réalisation d'analyses. Les données saisies dans la base Voozadoo ne sont donc pas anonymes.

Base de données du pôle Zones endémiques du CNR Paludisme

En Guyane, le laboratoire de parasitologie de l'IPG dispose également d'une base de données permettant de gérer les différents échantillons qu'il reçoit et les informations clinico-épidémiologiques associées. Cette base est construite autour du patient de façon à regrouper les prélèvements issus d'une même personne et détecter rapidement les suspicions d'échecs thérapeutiques ou de reviviscence concernant *P. vivax*. Elle permet également de regrouper toutes les données clinico-épidémiologiques et les notions d'antécédents de paludisme disponibles pour un patient. Côté laboratoire, cette base gère l'ensemble des analyses à réaliser, émet des listes de travail et permet de suivre les délais de rendu de résultat. Elle est hébergée sur le serveur propre de l'IPG. Cependant, cette base n'est pas suffisamment aboutie en termes d'analyse des données et requêtes. Un travail conjoint à l'ensemble des CNR pasteuriens est en cours pour disposer d'une base de données plus adaptée. Le déploiement est programmé pour 2026.

Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

2.1 Liste des techniques de référence

Tableau récapitulatif des techniques maîtrisées au sein du CNR Paludisme

L'ensemble des techniques disponibles est regroupé dans le Tableau 3 où sont détaillés les laboratoires maîtrisant les différentes techniques.

Tableau 3 : Techniques de laboratoire disponibles sur les différents sites du CNR Paludisme.

	Pôle "zones non endémiques"		Pôle zones endémiques	
	Bichat	Pitié Salpêtrière	IRBA	IPG
Méthodes diagnostiques				
Microscopie, frottis (coloration rapide), goutte épaisse (Giemsa)	✓*	✓*	✓	✓*
Détermination de la densité gaméocytaire par microscopie	✓	✓*	✓	✓
Microscopie automatisée utilisant l'IA pour la reconnaissance des parasites		ED	ED	
Détermination de la densité gaméocytaire par RT-PCR	ED			ED
Tests de diagnostic rapide	✓*	✓*	✓	✓*
LAMP diagnostique	✓*	✓*		
PCR diagnostique en temps réel multiplex	✓*	✓*	✓	✓*
PCR diagnostique en temps réel ultrasensible Pf ou Pv	✓			✓
Mesure des hématies parasitées et « pitées » en cytométrie en flux (marqueur prédictif d'anémie retardée)		✓		
Diagnostic spécifique de <i>Babesia</i>	ED			
Méthodes de culture cellulaire				
Phénotypage de <i>P. falciparum</i> par les méthodes isotopiques vis-à-vis de la grande majorité des antipaludiques	✓*			✓*
Phénotypage de <i>P. falciparum</i> par les méthodes immunoenzymatiques vis-à-vis de la grande majorité des antipaludiques			✓	
Test de survie de <i>P. falciparum</i> vis-à-vis des dérivés de l'artémisinine	ED		✓	✓
Test de survie de <i>P. falciparum</i> vis-à-vis de la pipéraquline	ED		✓	✓
Test de survie de <i>P. falciparum</i> vis-à-vis de la luméfantrine				✓
Adaptation à la multiplication <i>in vitro</i> d'isolats de <i>P. falciparum</i>			✓ (J15)	✓ (Jx)
Culture continue <i>in vitro</i> des souches de référence de <i>P. falciparum</i>	✓		✓	✓
Test de compétition <i>in vitro</i> pour étude de la résistance				✓
Pression médicamenteuses <i>in vitro</i>	ED		✓	✓
Méthode de biologie moléculaire				
Marqueurs moléculaires de résistance <i>P. falciparum</i>	✓		✓	✓
Marqueurs moléculaires de résistance <i>P. vivax</i> (<i>pvmdr1</i>)			✓	✓
Empreintes génétiques de <i>P. vivax</i>			✓	✓
Empreintes génétiques de <i>P. ovale</i>	✓			

Caractérisation des gènes <i>pfhrp2</i> et <i>pfhrp3</i>	✓	✓	✓
Suivi de la clairance parasitaire par PCR	✓		
Génotypage du gène G6PD et phénotypage associé		✓	✓
Sérologie			
Anticorps anti-stades asexués	✓		✓
Dosage pharmacologique des antipaludiques		✓	

* méthode entrant dans le champ d'accréditation du laboratoire selon la norme de biologie médicale 15189 ; ED : en développement ; PCR : réaction de polymérisation en chaîne.

Chaque technique est présentée de manière plus détaillée dans le paragraphe suivant.

Techniques mises en œuvre dans les laboratoires du CNR

Méthodes diagnostiques

Le diagnostic d'espèce et la densité parasitaire sont confirmés au microscope sur frottis mince et goutte épaisse. Tous les prélèvements reçus dans les laboratoires du CNR font l'objet d'une confirmation du diagnostic d'espèce par une PCR multiplexe temps réel. Les divergences ou difficultés diagnostiques sont complétées par une étude antigénique (tests immunochromatographiques de diagnostic rapide). Les discordances sont remontées aux partenaires.

Dosages des antipaludiques

Le dosage des antipaludiques est effectué sur les plasmas des isolats de *P. falciparum* associés à un échec thérapeutique ou prophylactique déclaré. A l'IRBA, les dosages sont effectués par chromatographie LHP. Les molécules étudiées sont la chloroquine (CQ) et son métabolite actif déséthyl (CQm), le proguanil (PG) (peu actif) et son métabolite actif le CY, la méfloquine (MQ) et son métabolite carboxy (cMQ), l'atovaquone (AV), la quinine (QN), l'amodiaquine et son métabolite actif déséthyl (DQ), la luméfantine (LUM), et la doxycycline (DOX).

Pour l'AV et la MQ, un dosage est effectué sur le plasma de J3 ou J7, si le patient s'est présenté au contrôle et s'il présente un échec thérapeutique précoce (J3-J7) ou tardif entre J7 et J28.

Test de chimiosensibilité in vitro de *Plasmodium falciparum*

Le principe du test isotopique est de mettre en contact les stades sanguins de *P. falciparum* avec des concentrations croissantes d'antipaludique (Le Bras *et al.*, 1983¹). Après 42 heures de culture, le niveau d'incorporation de l'hypoxanthine tritiée, précurseur de l'ADN, permet d'évaluer l'inhibition de la croissance parasitaire par l'antipaludique testé. On peut alors tracer une courbe effet/dose et déterminer la concentration nécessaire pour réduire de 50% la croissance parasitaire (concentration inhibitrice 50% : CI₅₀). La courbe et la CI₅₀ sont calculées par l'intermédiaire d'un logiciel, ICestimator, développé par J. Le Bras (<http://www.antimalarial-icestimator.net>, Kaddouri H *et al.*, 2006²).

La chimiosensibilité de *P. falciparum* (antipaludogramme) à la chloroquine, la mono-déséthylamodiaquine, la quinine, la luméfantine, la dihydroartémisinine, la méfloquine, la pipéraquine, la doxycycline et la pyronaridine est mesurée. L'atovaquone est testée en systématique en Guyane. Ces molécules ont été choisies en fonction des recommandations thérapeutiques et prophylactiques (pays frontaliers inclus, Tableau 4) et de l'intérêt thérapeutique de molécule en développement. Si justifiée, la sensibilité peut être mesurée à

¹ Le Bras J, Deloron P: *In vitro* study of drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*: evaluation of a new semi-micro test. *Am J Trop Med Hyg* 1983, **32**:447-451.

² Kaddouri H, Nakache S, Houze S, Mentre F, Le Bras J: 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* 2006, **50**:3343-3349.

l'atovaquone, la pyronaridine, à l'halofantrine, l'artésunate, l'artéméther, au cycloguanil ou à la pyriméthamine. Les tests sont réalisés si les prélèvements contiennent des parasites non altérés, et si la parasitémie est supérieure ou égale à 0,1 % (5000 formes asexuées par μL de sang).

Le laboratoire coordonnateur de Bichat et de Pasteur Guyane révèle la croissance parasitaire par incorporation d'hypoxanthine tritiée. Bien que technique de référence, la principale limitation de cette méthode est qu'elle utilise un radionucléide (tritium) dont la demi-vie est de 12,3 ans et génère donc des déchets radioactifs (solides et liquides). Les installations font l'objet d'une autorisation délivrée par l'Autorité de Sureté Nucléaire et le laboratoire évacue annuellement ses déchets via l'ANDRA.

Depuis 2013, l'IRBA révèle ses après 72 heures de culture, par la mesure de la quantité d'antigène présente dans le milieu (pLDH ou pHRP₂) à l'aide d'un test ELISA. La chimiosensibilité de *P. falciparum* (antipaludogramme) à la chloroquine, la mono-déséthylamodiaquine, la quinine, la luméfantrine, la pyronaridine, la dihydroartémisinine, l'artésunate, la méfloquine, la pipéraquine et la doxycycline est mesurée en systématique au laboratoire associé au CNR de Marseille.

Tableau 4 : Recommandations thérapeutiques en Guyane, au Suriname et au Brésil en 2017.

			Guyane	Suriname	Brésil
<i>P. falciparum</i>	Accès simple	1	AR/LU	AR/LU/PQ	AR/LU ou AS/ MQ
		2	AV/PG	AS/MQ/PQ	QU/DX
	Accès grave		AS IV puis AR/LU	AS IV puis AR/LU	QU + AS
<i>P. vivax</i>			AR/LU ou CQ	CQ	AS/MQ
<i>P. malariae</i>			PQ (30mg/j - 15 jours)	+ PQ (15mg/j - 15 jours)	+ PQ (30mg/j - 7 jours)

AR : artéméther ; AS : artésunate ; AV : atovaquone ; CQ : chloroquine ; DX : doxycycline ; IV : intra veineux ; LU : luméfantrine ; MQ : méfloquine ; PG : proguanil ; PQ : primaquine ; QU : quinine.

Préambule à l'interprétation des tests *in vitro* présentés dans le document principal

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 au sein du CNR sont:

- 800 nM pour la quinine (Basco & Le Bras, 1994),
- 35 μM pour la doxycycline (Briolant *et al.*, 2009),
- 12 nM pour l'artéméther (Basco & Le Bras, 1993),
- 150 nM pour la luméfantrine (Pradines *et al.*, 1999),
- 12 nM pour la dihydro-artémisinine (Basco & Le Bras, 1993),
- 135 nM pour la pipéraquine (Amato *et al.*, 2017),
- 60 nM pour la pyronaridine (Pascual *et al.*, 2015),
- 30 nM pour la méfloquine (Pratt-Riccio *et al.*, 2013),
- 60 nM pour la monodéséthyl-amodiaquine (Ringwald *et al.*, 1998).
- 100 nM pour la chloroquine (Dedet *et al.*, 1988)
- 400 nM pour l'atovaquone (Savini *et al.*, 2008)

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 réalisées en Guyane 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.

Les données de chimiosensibilité sont présentées par zone de provenance des parasites et non pas par laboratoire réalisant l'analyse.

Phénotypage à l'aide des tests de survie (ring survival assay) vis à vis des dérivés de l'artémisinine, de la Pipéraquline et de la luméfántrine

Cette nouvelle méthode de phénotypage est réalisée vis-à-vis de trois molécules : artémisinine (RSA), pipéraquline (PSA) et luméfántrine (LSA). Elle est mise en œuvre pour étudier la sensibilité des parasites alors qu'ils sont synchronisés très précisément entre 0 et 3h de leur cycle de développement de 72h (Witkowski *et al.*, 2013³, Duru *et al.*, 2015⁴). Au laboratoire coordinateur de Bichat, ces tests sont effectués dans des cas particuliers (échec thérapeutique) sur des isolats de parasites fraîchement collectés chez des patients infectés par *P. falciparum* (mono-infection). Au laboratoire de la parasitologie de l'Institut Pasteur de la Guyane, ces tests sont effectués après adaptation en culture des isolats de manière à pouvoir les reproduire si besoin. Pour les tests RSA, les parasites sont exposés à 700nM de DHA pendant 6 heures (exposition s'approchant de celle des patients traités), 200nM pendant 48h pour la pipéraquline et 500nM pendant 48h pour la luméfántrine. Leur survie est évaluée 72 heures plus tard par lecture microscopique très consommatrice de ressources humaines.

Le résultat est exprimé en pourcentage de parasites survivant par rapport à la cupule contrôle ne contenant que du solvant ou milieu de culture. Les isolats présentant un taux de survie supérieur à 1% sont dits résistants pour le RSA et 10% pour le PSA. Le seuil d'interprétation est en cours de détermination pour le LSA.

Méthodes de biologie moléculaire

○ Extraction d'ADN

A partir de sang veineux prélevé sur tube EDTA ou papier buvard sur silice (Biomérieux® ou Qiagen®).

○ Analyse des marqueurs moléculaires de résistance

La recherche de mutations ponctuelles par séquençage

L'identification par séquençage des mutations ponctuelles se situant sur les gènes codants sont réalisées :

- le cytochrome *b* (*pf*cyt*b*) : le codon 268 (Y268S ou Y268C) étant lié à la résistance à l'atovaquone/proguanil ou Malarone® (Musset *et al.*, 2006⁵),
- le gène *mdr1* (*pf*mdr1) : les mutations au niveau de ce gène sont en lien, avec la résistance à la méfloquine ou la luméfántrine
- le gène *K13* (*pf*K13) : les mutations dans le site actif de ces protéines sont recherchées selon la méthode développée par Arieu *et al.*, 2014⁶ en lien avec la résistance aux dérivés de l'artémisinine,
- le gène *crt* (*pf*crt) : les mutations au niveau de ce gène sont en lien, en fonction des régions du monde avec la résistance à la chloroquine ou la pipéraquline, Fidock *et al.*, 2000⁷, Pelleau *et al.*⁸, 2015,

³ Witkowski B, *et al.* (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(12):1043-1049.

⁴ Duru V, *et al.* (2015). *Plasmodium falciparum* dihydroartemisinin-piperaquine failures in Cambodia are associated with mutant K13 parasites presenting high survival rates in novel piperaquine *in vitro* assays: retrospective and prospective investigations. *BMC medicine* 13:305.

⁵ Musset L, Bouchaud O, Matheron S, Massias L, Le Bras J: Clinical atovaquone-proguanil resistance of *Plasmodium falciparum* associated with cytochrome *b* codon 268 mutations. *Microbes Infect* 2006, 8:2599-2604.

⁶ Arieu F, *et al.* (2014) A molecular marker of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature* 505(7481):50-55.

⁷ Fidock DA, *et al.* (2000) Mutations in the *P. falciparum* digestive vacuole transmembrane protein PfCRT and evidence for their role in chloroquine resistance. *Mol Cell* 6(4): 861-871.

⁸ Pelleau S, *et al.* (2015) Adaptive evolution of malaria parasites in French Guiana: Reversal of chloroquine resistance by acquisition of a mutation in *pf*crt. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 112(37), 11672-11677.

- la dihydrofolate reductase et la dihydroptéroate synthase (*pfdhfr*, *pfdhps*) impliquées dans la résistance aux antifoliques et antifoliniques.

La détection des amplifications géniques par PCR en temps réel

- Gène *pfmdr1* : l'augmentation du nombre de copies du gène *pfmdr1* est associée à la résistance à la méfloquine (Price *et al.*, 2004⁹),
- Gènes *plasmepsine 2 et 3* : l'augmentation du nombre de copies du gène *plasmepsine 2* pourrait être associée à la résistance de *P. falciparum* à la pipéraquline.

Etude du polymorphisme génétique des plasmodies

Pour les patients présentant deux accès palustres à *P. falciparum* dans un intervalle de temps court (<4-5 semaines) en l'absence de nouveau séjour en zone d'endémie, ces techniques permettent de distinguer les échecs thérapeutiques des nouvelles infections. Ces techniques permettent également d'étudier le dynamisme et de la diversité de la population parasitaire circulant dans une zone donnée.

Pour cette étude des marqueurs microsatellites de *P. falciparum*, chacun est amplifié par PCR utilisant une amorce fluorescente. Trois fluorochromes différents sont utilisés (Musset *et al.*, 2007¹⁰). La distinction des deux marqueurs marqués par le même fluorochrome s'effectue en comparant les tailles observées. Cette technique permet également pour valider les souches de référence ou les isolats au cours de la culture cellulaire et être sûr qu'elles n'ont pas été victimes d'un mélange accidentel ou d'une dérive génétique.

Les gènes codant des antigènes de surface du mérozoïte, *pfmsp1*, *pfmsp2* et *pfglurp* peuvent également être étudiés (Robert *et al.*, 1996¹¹, Ntoumi *et al.*, 1995¹²). La distinction des différentes familles s'effectue sur gel d'agarose en comparant les tailles observées.

Etude du génome plasmodial par NGS

En collaboration avec l'UMR 261 MERIT de l'IRD, le laboratoire coordonnateur du CNR Paludisme a développé l'étude du génome plasmodial par NGS (Next Generation Sequencing) sur les isolats d'intérêt : échecs thérapeutiques, paludismes autochtones, paludismes de Mayotte. En 2024, le laboratoire coordonnateur du CNR Paludisme a développé en association avec l'UMR MERIT IRD261/INSERM 1344, l'étude des marqueurs moléculaires de résistance par Ampliçon Sequencing avec la technologie Illumina sur les séquenceurs du service de génétique de l'hôpital Bichat (Pr Caroline Kannengiesser).

L'IRBA a développé le séquençage du génome total des isolats d'intérêt par technique Illumina et Nanopores. En Guyane, le séquençage s'appuie sur la plateforme Biomix de l'Institut Pasteur à Paris.

Identification des délétions des gènes *pfhrp2/pfhrp3*

Les tests de diagnostic rapide (TDR) sont devenus un outil indispensable pour le diagnostic de paludisme dans les zones endémiques. Les plus communément utilisés car les plus sensibles pour détecter *P. falciparum* sont des TDR basés sur la détection de l'antigène Pf-HRP2. Depuis les années 2010, des délétions au niveau du gène codant pour la protéine Pf-HRP2 et Pf-HRP3 chez *P. falciparum* ont été mises en évidence dans certains pays situés à l'ouest de l'Amérique du Sud. Ces délétions entraînent un TDR négatif pour *P. falciparum*. Actuellement, ces délétions ont également été décrites au Congo, en Afrique de l'Est, et en Inde. Ainsi, l'OMS

⁹ Price RN, Uhlemann AC, Brockman A, McGready R, Ashley E, Phaipun L, Patel R, Laing K, Looareesuwan S, White NJ, et al: **Mefloquine resistance in *Plasmodium falciparum* and increased *pfmdr1* gene copy number.** *Lancet* 2004, **364**:438-447.

¹⁰ Musset L, Le Bras J, Clain J: **Parallel evolution of adaptive mutations in *Plasmodium falciparum* mitochondrial DNA during atovaquone-proguanil treatment.** *Mol Biol Evol* 2007, **24**:1582-1585.

¹¹ Robert F, Ntoumi F, Angel G, Candito D, Rogier C, Fandeur T, Sarthou JL, Mercereau-Puijalon O: **Extensive genetic diversity of *Plasmodium falciparum* isolates collected from patients with severe malaria in Dakar, Senegal.** *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996, **90**:704-711.

¹² Ntoumi F, Contamin H, Rogier C, Bonnefoy S, Trape JF, Mercereau-Puijalon O: **Age-dependent carriage of multiple *Plasmodium falciparum* merozoite surface antigen-2 alleles in asymptomatic malaria infections.** *Am J Trop Med Hyg* 1995, **52**:81-88.

recommande une surveillance attentive des parasites déléétés. Cette surveillance s'étend au Venezuela et au Guyana depuis le site de Guyane. Pour ce faire, nous avons mis en place au laboratoire coordinateur de Bichat, une PCR en temps réel spécifique détectant les gènes *pfhrp2* et *pfhrp3* ainsi que le gène *pfldh* pour confirmer l'espèce *P. falciparum*, et le gène de la B globine humaine comme témoin de réaction. Cette PCR est actuellement réalisée sur les échantillons associés à des résultats négatifs par TDR et aux isolats contractés dans les pays d'endémie pour lesquels une proportion importante d'isolats déléétés a été rapportée et pour lesquels un résultat de TDR PfHRP2 est disponible.

Techniques spécifiques du pôle Zones non Endémiques

○ *Etude du pitting*

L'artésunate par voie intraveineuse (IV) est le traitement de première intention du paludisme grave dans le monde. La molécule est responsable d'un effet indésirable grave fréquent : une anémie retardée survenant après le traitement, la PADH. En France métropolitaine, elle survient chez 25 à 45% des patients traités pour un accès grave. La survenue de la PADH peut être prédite par la mesure, entre le J3 et le J7, du taux d'hématies pitéées (débarrassées du parasite mort dans la rate et remis en circulation). Nous avons développé et adapté une méthode de diagnostic en cytométrie en flux (CF) pour un usage médical.

La protéine ciblée pour ce diagnostic est la protéine RESA (Ring-infected Erythrocyte Surface Antigen) libérée par le mérozoïte de *P. falciparum*. Elle se fixe à la membrane au moment de l'entrée du parasite dans le globule rouge (GR). Des Ac polyclonaux sont produits contre la protéine. Pour la mesure de la parasitémie et de la pitéémie, les GR du patient sont préparés avec le glutaraldéhyde, incubés avec les Ac anti RESA puis incubés avec l'Ac secondaire conjugué au Pacific Blue™ et avec du SYBR™ Green I pour le marquage des acides nucléiques. L'acquisition est réalisée sur 50 000 événements (GR) sur l'appareil CytoFLEX (Beckman-Coulter, France). Les GR infectés par *P. falciparum* sont RESA positifs et SYBR positifs, les GR pitéés sont RESA positifs et SYBR négatifs tandis que les GR non infectés sont doubles négatifs. La mesure de la parasitémie est proportionnelle sur une gamme dynamique d'au moins 2 Log (0,1% à 10% de parasitémie). Les répétabilité des taux de parasitémie et de pitéémie présentent un CV < 10%. Le délai entre le prélèvement de l'échantillon et la température de conservation de l'échantillon exercent une influence sur la qualité de l'analyse. Un délai jusqu'à 7 jours est acceptable si l'échantillon est conservé à 4°C. La technique est réalisée en moins de 4 heures en triplicate sur une plaque 96 puits pour une vingtaine d'échantillons. Elle est disponible comme un examen spécialisé de recours pour toutes les structures de soins en charge de ces patients.

○ *Sérodiagnostic Ac Antinucléaires sur cellules Hep2*

Une nouvelle méthode originale pour le diagnostic des paludismes chroniques à l'aide d'un test répandu et habituellement prescrit pour le diagnostic de certaines maladies auto-immunes, la recherche d'auto-anticorps sur cellules Hep2. Une avancée qui permet d'améliorer ce diagnostic souvent délicat et généralement non évoqué chez des patients explorés pour des maladies chroniques pouvant évoquer une infection auto-immune (thrombopénie chronique, maladie inflammatoire chronique) et donc de proposer une meilleure prise en charge thérapeutique aux patients. Les résultats de cette étude font l'objet d'une publication la revue PLOS ONE.

Techniques spécifiques du Pôle Zones endémiques Guyane

○ *Méthodes diagnostiques*

Diagnostic différentiel d'espèce par PCR nichée (Snounou *et al.*, 1993¹³).

Lorsqu'un prélèvement arrive au laboratoire, un frottis et une goutte épaisse sont systématiquement réalisés. En cas de difficulté diagnostic, un test TDR et un diagnostic différentiel d'espèce par PCR sont réalisés. Le diagnostic différentiel d'espèce est également utilisé pour tous les échantillons : i) pour lequel le LA-ZE a reçu une demande d'expertise de confirmation d'espèce d'un laboratoire de diagnostic, comme par exemple une

¹³ Snounou G, Viriyakosol S, Zhu XP, Jarra W, Pinheiro L, do Rosario VE, Thaithong S, Brown KN: **High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction.** *Mol Biochem Parasitol* 1993, **61**:315-320.

recherche de *P. falciparum* chez un patient hospitalisé pour un *P. vivax*, ou ii) en cas de discordance entre le diagnostic du laboratoire et l'examen microscopique du frottis effectué au LA-ZE.

- *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*, *P. vivax*, *P. ovale* et *P. 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*, *P. malariae* et *P. knowlesi* et la troisième la mégaglobuline. Les sensibilités ont été déterminées à 5 parasites par microlitre pour *P. malariae*, 1 p/μl pour les trois espèces *P. falciparum*, *P. ovale* et *P. knowlesi* et à 0,5p/μl pour *P. vivax*. Cette technique entre dans le champ d'accréditation de la norme NF EN ISO 15189 version 2012 portée B des activités de biologie médicale de l'Institut Pasteur de la Guyane.

- *PCR dite "ultra-sensible" en temps réel*

Cette PCR en temps réel permet de diagnostiquer les deux espèces plasmodiales les plus courantes en Guyane, *Plasmodium falciparum* et *Plasmodium vivax*. Elle a été développée dans le cadre de l'objectif d'élimination du paludisme en Guyane de manière à être plus sensible pour détecter les porteurs asymptomatiques de parasites.

L'objectif était de repousser la limite de détection en ciblant des gènes parasitaires davantage répétés que le gène 18S. Cette approche a permis d'améliorer la détection pour *P. vivax* en utilisant comme cible **pvcox1** (0,03 parasites/μl vs 0,5P/μl) et pour *P. falciparum* en utilisant comme cible **pfvarATS** (0,25 parasites/μl vs 1P/μl). Ces deux techniques se sont inspirées de méthodes précédemment décrites par Hofmann et al. 2015 et Lloyd et al., 2018.

- *Méthodes de culture cellulaire*

- *Multiplication in vitro continue de P. falciparum*

En plus de la multiplication *in vitro* des souches de référence pour la réalisation des contrôles de qualité des lots de solution mères d'antipaludiques maîtrisée depuis longtemps au laboratoire, le laboratoire adapte à la multiplication *in vitro* les isolats de *P. falciparum* depuis mi 2009. Cette adaptation permet de consolider la collection d'isolats cryoconservés ou encore de déterminer des chimiosensibilités pour des isolats qui ne présentaient pas les critères requis à la réception : volume de sang insuffisant ou parasitémie trop faible. Cela permet également de disposer de parasites contemporains disposant de différents fonds génétique. Ceci est d'importance quand il s'agit de valider par recombinaison homologue des marqueurs moléculaires potentiellement liés à des mécanismes de résistances. Le pourcentage d'adaptation est de proche de 95%, isolats importés d'Afrique inclus.

- *Méthodes de biologie moléculaire*

- *Modification génétique dirigée des parasites encore appelée : transfection*

La recombinaison homologue a été mise en place au laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de la Guyane. Elle est effectuée chez des parasites contemporains, d'Amazonie ou d'Afrique afin de caractériser les mécanismes de résistance et leurs marqueurs associés. Cette technique consiste à modifier les parasites à l'aide de nucléases à doigt de zinc (Zinc Finger Nucleases) ou de la méthode CRISPR Cas9 qui permettent de découper l'ADN à un endroit bien précis.¹⁴ On introduit ainsi une portion du gène ciblé qui porte la mutation étudiée. Les parasites génétiquement modifiés ainsi obtenus sont clonés par dilution limite puis exposés aux antipaludiques par l'intermédiaire des tests de survie *in vitro* pour mesurer l'impact de la mutation introduite sur leur niveau de sensibilité.

- *Etude du polymorphisme génétique de P. vivax grâce aux marqueurs microsatellites*

Cette méthode de PCR nichée permettant d'amplifier sept marqueurs microsatellites de *P. vivax* par PCR nichée a été mise au point en 2011 mais n'a pas encore été publiée. Le protocole est disponible sur demande.

¹⁴ 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. Benoit-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.

○ Séquençage entier du gène codant pour la G6PD humaine

Une méthode de séquençage haut débit (Nanopore) a été mise au point pour séquencer la totalité du gène codant la G6PD puisque ce gène de 18Kb est difficile à séquencer en méthode classique car il possède un intron de 12Kb entre l'exon 2 et 3. Ce séquençage permet de connaître le génotype des patients, notamment les patients déficitaires en G6PD afin d'évaluer le risque hémolytique en cas de prescription de primaquine.

Marqueurs épidémiologiques disponibles

Le tableau ci-dessous reprend les principaux marqueurs épidémiologiques et biologiques disponibles au sein du CNR paludisme :

Tableau 5 : Marqueurs disponibles sur les différents sites du CNR Paludisme.

	Pôle Métropole	Pôle ZE
Marqueurs épidémiologiques des patients impaludés		
Âge	✓	✓*
Genre	✓	✓*
Ethnicité	✓	
Zone d'endémie visitée	✓	✓
Nature du séjour	✓	✓
Prophylaxie personnelle antipalustre	✓	✓
Signes cliniques	✓	✓
Signes biologiques	✓	
Prise en charge thérapeutique	✓	✓
Evolution clinique	✓	
	Pôle Métropole	Pôle ZE
Marqueurs biologiques des plasmodies		
Espèce plasmodiale et charge parasitaire	✓	✓
Phénotype <i>in vitro</i> de sensibilité de <i>P. falciparum</i>	✓	✓
Phénotype <i>in vivo</i> d'efficacité thérapeutique	✓	✓
Génotype des marqueurs de résistance de <i>P. falciparum</i>	✓	✓
Marqueurs d'échec prophylactique (dosages plasmatiques)	✓	
Marqueurs d'échec thérapeutique (dosages plasmatiques)	✓	
Délétion <i>pfhrp2</i> et <i>pfhrp3</i>	✓	✓

* Données disponibles et collectées par les Cire en zone d'endémie

Liste des techniques recommandées par le CNR

Les membres du CNR se tiennent à la disposition de tous les partenaires ou acteurs de santé afin de discuter de l'intérêt ou non de mettre en œuvre une technique plutôt qu'une autre. Les protocoles utilisés au sein de nos laboratoires sont disponibles sur simple demande. Si la méthode est complexe, une formation au sein d'une des équipes du CNR est envisageable et sera planifiée avec le demandeur.

Annexe 3 : Autres informations

Cf Annexe 3 du rapport dans un document séparé

Annexe 4 : Recensement des collections de matériels biologiques

Cf Annexe 4 du rapport dans un document séparé

Annexe 5 : Liste des Centres Hospitalo-Universitaires et des centres hospitaliers régionaux correspondants du CNR du Paludisme - Pôle métropole en 2024

Tableau 6 : Liste des Centres Hospitalo-Universitaires et des centres hospitaliers régionaux correspondants du CNR du Paludisme - Pôle métropole en 2024

Ville CH	Groupes Voozanoo 4	Cas déclarés en 2024
Créteil-Henri Mondor	HMN-CHU-Henri-Mondor	205
Hospices Civils de Lyon	HEH-CHU-Hospices-Civils-de-Lyon	151
Toulouse-Rangueil	TLS-CHU-Toulouse-Rangueil	149
Paris-Bichat	BCB-Paris-Bichat	137
Marseille-Timone	TIM-CHU-Timone	136
Nantes	NTE-CHU-Nantes	122
Bobigny-Avicenne	AVC-CHU-Avicenne	93
Paris-Pitié-Salpêtrière	PSL-CHU-Pitié-Salpetriere	93
Paris-Saint-Antoine	SAT-CHU-Saint-Antoine	91
Saint-Denis	SDN-CH-Saint-Denis	87
Bordeaux	BDX-CHU-de-Bordeaux	81
Longjumeau	LGJ-CH-Longjumeau	71
Rennes	RNN-CHU-Rennes	64
Paris-Robert Debré	RDB-CHU-Robert-Debre	59
CNR paludisme*	CNR	58
Rouen	ROU-CHU-Rouen	58
Villeneuve-St-Georges	VSG-CH-Villeneuve-St-Georges	58
Colombes-Louis Mourier	LMR-Colombes-Louis Mourier	55
Montpellier	MPL-CHU-Montpellier	54
Strasbourg	SBG-CHU-Strasbourg	54
Versailles	VRS-CH-Versailles	51
Nice	NIC-CHU-Nice	48
Poissy/Saint-Germain-en-Laye (CHIPS)	PSS-CHI Poissy/Saint-Germain-en-Laye (CHIPS)	45
Reims	RMS-CHU-Reims	45
Tours	TOU-CHU-Tours	45
Angers	ANG-Angers	44
Grenoble	GNB-Grenoble	44
Paris--Saint Louis	SLS-CHU-Saint-Louis	43
Paris/St Joseph	STJ-Paris/St Joseph	43
Paris-Cochin	CCH-Paris-Cochin	42
Limoges	LMG-CHU-Dupuytren1	41
Paris-Necker	NCK-Hopital-Necker-Enfants-Malades	38
Poitiers	PTS-CHU-Poitiers	36
Marseille-HIA Laveran	LVN-HIA-Laveran	35
Clermont-Ferrand	CMF-CHU-Clermont-Ferrand	33

Caen	CAN-CHU-Caen-Normandie	30
Paris-HEGP	HGP-Hopital-Europeen-Georges-Pompidou	29
Saint-Etienne	SET-Saint-Etienne	29
Le Mans	LMS-CHU-Le-Mans	26
Dijon	DJN-CHU-Dijon	23
Paris-Trousseau	TRS-CHU-Trousseau	23
Nancy	NCY-CHU-Nancy	21
Besancon	BSC-Hopital-de-Besancon	20
La Rochelle	LRC-La Rochelle	20
Amiens	AMN-CHU-Amiens-Picardie	19
Paris-HIA Begin	BEG-Paris-HIA-Begin	18
Brest	BST-CHU-de-Brest-(Cavale-Blanche)	17
Chambery	CBY-Chambery	17
Tourcoing	TRG-CH-Tourcoing	17
Aulnay sous Bois	ALY-CHI-Ballanger	16
Boulogne	APR-Hopital-Ambroise-Pare	14
La Roche sur Yon	LRY-La Roche sur Yon	14
Paris-Inst-Pasteur	IPP-CM-Institut-Pasteur	13
Lille	LLL-CHU-Lille	13
Saint-Brieuc	SBC-Saint-Brieuc	12
Dourdan	DRD-Dourdan	11
Niort	NRT-Niort	10
Brest-Clermont-Tonnerre	BAR-HIA Brest-Clermont-Tonnerre	9
Valenciennes	VCN-Valenciennes	9
Le Havre	LHV-CH-Le-Havre	8
Annecy	ANC-CH-Annecy	7
Laval	LVL-CH-Laval	7
Nimes	NIM-Nimes	7
Montauban	MTB-CH-Montauban	6
Cahors	CHR-Cahors	5
Mulhouse	MLH-Mulhouse	5
Saint-Nazaire	SNZ-CH-Saint-Nazaire	5
Roanne	ROA-Roanne	4
Cholet	CHT-Cholet	3
Marseille-DESP-Sud	DSS-Marseille-DESP-Sud	3
Fréjus St Raphaël	FSR-FrÈjus St Raphaël	2
Morlaix	MLX-CU-Morlaix	2
Suresnes	SRN-FOCH-Suresnes	2
Blois	BLS-Hopital-de-Blois	1
Roubaix	CH de Roubaix -Lille	1
Total		3007

**Echantillon adressé au CNR, non déclaré et saisi par le CNR lorsque les données épidémiologiques de base sont disponibles (accompagnant l'échantillon)*

Tableau 7 : nombre de déclarations avec les données complétées et d'isolats transmis aux laboratoires du CNR du Paludisme pour chaque correspondant

Correspondants	Nombre cas déclarés	Nombre prélèvements transmis au CNR	Pays de résidence déclaré	Pays d'endémie déclaré	Date de retour déclaré	Clinique de l'accès (grave/simple)	Symptômes cliniques	Date de diagnostic	Données biologiques hématologiques	Diagnostique microscopique déclaré	Parasitémie	TDR	LAMP	Espèce déclarée	Traitement prescrit	Données de suivi thérapeutique	Perdu de vue	Closures des déclarations
ALY	18	11	16	18	11	18	18	11	18	18	18	8	14	18	11	3	12	3
AMN	18	16	17	18	15	18	17	16	17	18	18	11	15	18	17	18	14	18
ANC	7	1	7	7	7	7	7	7	7	7	6	1	6	7	7	4	7	4
ANG	45	44	44	45	44	44	44	44	44	45	45	0	45	44	44	20	45	45
APH	14	13	3	14	11	12	13	13	14	14	11	14	14	13	12	0	0	0
AVC	44	9	6	04	89	93	9	9	9	9	9	0	33	83	5	0	0	0
BAR	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	0	9	9	9	7	0	7
BCL	144	144	124	143	136	136	134	144	134	144	123	108	138	141	123	67	44	17
BDX	86	71	71	79	79	79	81	71	74	86	4	78	0	86	80	42	46	75
BEG	18	16	16	18	16	18	18	16	18	18	0	18	18	18	18	16	2	18
BLS	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0
BSC	20	20	18	20	19	19	20	20	20	20	18	20	3	20	20	7	12	19
BST	17	15	15	16	17	17	16	17	17	17	17	0	17	16	10	7	19	19
CAN	26	0	26	26	26	26	26	26	26	26	26	0	26	26	9	15	26	26
CBY	19	2	19	19	18	19	19	2	19	17	18	19	12	19	19	8	11	18
CCH	43	43	39	39	38	39	40	43	43	43	41	43	0	41	41	9	34	42
CHD	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
CHR	5	4	5	5	3	4	5	5	5	5	5	0	5	5	2	2	4	4
CHT	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	0	4	4	2	1	0	0
CMF	33	32	32	33	33	33	33	32	33	33	32	32	32	33	33	6	26	33
CNN	5	4	5	5	5	5	5	0	5	5	4	4	5	5	2	3	5	5
CNR	153	146	150	153	149	151	151	148	52	153	145	26	26	21	117	1	1	1
CPN	23	19	19	23	20	23	23	19	17	23	23	19	17	23	18	2	1	3
CRD	11	7	10	11	9	11	10	7	11	11	11	11	0	11	11	3	6	11
DGS	9	0	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	8	8	9	9
FSR	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	2	1	1	1
GDP	5	2	5	5	5	5	5	1	5	5	5	5	0	5	4	3	1	4
GNB	43	40	43	43	42	42	42	40	43	43	43	26	35	40	41	20	22	43
HEH	160	9	130	155	136	154	152	9	115	160	89	156	105	159	89	54	66	122
HOP	31	27	34	34	29	29	29	27	31	31	24	19	24	29	28	0	26	28
HMN	212	199	173	198	176	196	199	179	212	212	192	104	104	208	198	12	22	28
HOP	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0
IPP	14	3	13	14	14	14	14	3	14	14	14	14	0	14	12	5	8	13
LGI	71	3	70	70	68	68	71	3	69	71	69	71	5	71	71	4	66	71
LHV	8	6	4	8	8	8	8	4	8	8	5	8	0	7	6	5	1	7
LIL	11	11	11	11	10	11	11	0	11	11	11	11	11	11	11	4	4	11
LMG	43	39	40	43	41	40	39	39	37	43	35	24	37	38	29	21	20	41
LNR	56	52	56	56	54	56	56	52	55	56	49	56	55	55	55	28	26	55
LMS	27	27	25	27	22	26	24	27	23	27	24	25	0	27	23	4	23	27
LRC	20	17	18	18	16	18	19	17	20	20	20	0	20	20	4	15	18	
LRI	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	0	16	16	12	0	1	0
LRY	14	3	11	14	11	14	14	3	14	14	11	14	12	12	11	10	2	14
LVL	7	0	6	5	4	4	7	7	7	7	7	7	7	7	6	6	1	4
LVN	41	38	41	41	39	39	40	39	40	41	36	39	0	39	41	28	12	39
MLJ	5	4	4	4	4	4	5	4	5	5	5	5	3	5	5	0	1	0
MLJ	18	15	18	18	18	18	18	15	18	18	18	18	18	18	18	17	7	18
MLK	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3
MPL	59	57	56	59	57	57	59	57	59	57	51	57	5	59	56	41	15	58
MTB	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	6	5	5	0	6
MTQ	17	14	11	17	17	17	17	14	12	17	17	17	17	17	11	5	16	17
NCK	40	38	33	36	27	39	39	39	21	40	26	33	30	30	29	15	25	40
NCP	21	16	21	21	16	21	16	21	21	21	20	0	21	21	18	3	18	20
NIC	50	48	48	48	48	48	48	48	50	47	39	39	50	47	35	15	48	48
NIM	7	7	7	7	6	7	7	7	7	7	6	6	7	7	7	3	4	7
NIT	10	10	9	10	8	8	8	10	8	10	8	10	10	10	9	1	2	3
NTE	112	110	110	111	111	111	112	110	109	112	101	112	111	109	112	62	50	109
PRL	95	15	93	92	82	92	91	15	96	95	86	90	0	95	87	24	34	14
PTS	38	34	38	38	28	38	38	35	38	38	29	33	34	37	38	16	23	37
RDB	64	53	59	62	61	62	54	53	64	64	55	61	60	56	59	38	25	60
RMS	48	47	48	48	46	47	44	48	47	48	45	47	1	48	46	16	32	45
RNN	65	63	64	65	65	65	65	65	65	65	54	25	55	63	65	39	27	63
ROA	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	0	4	4	2	2	4	4
ROU	82	59	34	59	57	65	57	59	57	62	54	61	5	59	52	47	11	57
SAT	91	72	32	71	48	80	80	72	91	89	69	11	29	89	68	25	52	54
SBC	13	2	13	13	10	9	12	2	13	13	11	13	0	13	10	7	7	13
SBG	61	45	61	61	58	61	60	45	61	61	58	60	45	60	59	25	35	25
SDN	88	86	85	87	77	86	87	86	87	88	83	87	0	88	87	33	53	88
SET	30	0	29	29	28	29	29	29	29	30	26	22	29	29	29	20	8	28
SLE	44	42	43	41	35	40	38	42	44	44	41	37	25	43	37	4	28	44
SNZ	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	0	6
SRN	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0
STI	44	35	44	43	41	40	41	35	44	44	35	0	44	41	42	4	44	44
TIM	279*	252	267	277	261	279	269	254	276	279	236	277	262	279	274	99	78	140
TLS	154	145	140	153	140	149	149	144	154	154	137	142	154	151	146	55	28	146
TOLU	48	39	45	44	44	48	48	48	48	48	45	43	0	48	43	18	21	48
TRO	17	6	17	17	16	16	17	6	17	17	15	17	0	17	16	15	2	17
TRG	22	16	22	22	22	22	22	22	22	22	19	22	19	21	22	17	2	23
VCN	9	9	0	7	3	0	5	9	9	9	9	22	22	6	2	2	7	9
VRS	52	50	40	52	48	52	48	50	35	52	47	49	30	51	39	4	47	51
VSG	60	57	52	60	48	52	52	57	60	60	56	57	47	60	58	30	36	58

* incluant les échantillons de suivi

Annexe 6. Partenaires guyanais : localisation, fréquence des liaisons avec Cayenne et niveau de participation à la surveillance biologique du paludisme en 2024.

Partenaires	Commune	Liaison (fréquences)	Nombre d'accès déclarés (SpF Guyane)	Isolats transmis au PZE	
				Nb	%
CH	Ouest Guyanais	Route (quotidienne)	8	8	100%
Centre de santé	Maripa Soula	Avion (quotidienne)	2	2	100%
Poste de santé	Antecume-Pata	Avion (quotidienne)	1	0	0%
CH	Cayenne	Route (quotidienne)	152	155	102%
LBM Eurofins	CAY/RM/STL	Route (quotidienne)	33	20	61%
LBM Eurofins	Kourou	Route (quotidienne)	101	107	106%
Centre de santé	Régina	Route (hebdomadaire)	2	1	50%
Centre de santé	St Georges de l'Oyapock	Route (bi- hebdomadaire)	62	37	60%
Centre de santé	Cacao	Route (quotidienne)	55	43	78%
Centre de santé	Camopi	Pirogue (occasionnelle)	3	3	100%
Centre de santé	Talhuen	Pirogue (occasionnelle)	1	0	0%
LBM Biososoleil	CAY/RM	Route (quotidienne)	8	16	200%
Forces Armées Guyane	Kourou	Route (quotidienne)	10	4	10%
Total			438	396	90%

CH : Centre Hospitalier, LBM : Laboratoire de Biologie Médicale, Nb: nombre, PZE: pôle zones endémiques, SpF Guyane : Santé publique France en région Guyane. CAY: Cayenne, RM: Rémire-Montjoly, STL: Saint Laurent du Maroni

Annexe 7 : Méthodes d'analyse

Sources de données

Les 75 correspondants volontaires du CNRPalu assurent la saisie en temps réel les données d'interrogatoire, cliniques et biologiques de chaque cas se fait, sauf exception, en remplissant une fiche électronique (<https://ssl.voozanoo.net/palu/>). Les exceptions concernent certains correspondants avec moins de 5 cas par an et les militaires pris en charge dans les unités ou hôpitaux du Service de Santé des Armées, (autres que les 3 Hôpitaux d'Instruction des Armées membre du réseau), qui ont une fiche de déclaration spécifique. Chaque dossier est complété par les résultats d'analyses spécialisées (PCR diagnostiques, antipaludogrammes, marqueurs moléculaires, dosages de médicaments) réalisées par les laboratoires du CNR sur les isolats transmis (cf rapport).

Définitions

Les définitions suivantes sont utilisées dans ce rapport pour les cas de paludisme confirmés détectés par le réseau de correspondant du CNR du paludisme en France métropolitaine

Afrique Australe : Afrique du Sud, Angola, Botswana, Comores, Lesotho, Madagascar, Malawi, Maurice, Mozambique, Namibie, Swaziland, Zambie, Zimbabwe, Territoires non autonomes, sous souveraineté de la France, dans l'océan Indien, La Réunion (département d'outre-mer), Mayotte (collectivité départementale d'outre-mer), Les Îles éparses de l'océan Indien (inhabitées, administrées depuis La Réunion) Sous souveraineté du Royaume-Uni, dans l'océan Atlantique Territoire d'outre-mer de Sainte-Hélène, Ascension et Tristan da Cunha.

Afrique Centrale : Cameroun, République centrafricaine, République du Congo, République démocratique du Congo, Gabon, Guinée équatoriale, Sao Tomé-et-Principe, Tchad.

Afrique de l'Est : Burundi, Djibouti, Érythrée, Éthiopie, Kenya, Ouganda, Rwanda, Seychelles, Somalie, Tanzanie.

Afrique de l'Ouest : Bénin, Burkina Faso, Cap-Vert, Côte d'Ivoire, Gambie, Ghana, Guinée, Guinée-Bissau, Liberia, Mali, Niger, Nigeria, Sénégal, Sierra Leone, Togo.

Afrique du Nord : Algérie, Égypte, Libye, Maroc, Mauritanie, Soudan, Tunisie

Amérique Latine-Caraïbes (Amérique du sud, Amérique centrale et îles des Caraïbes) : Indicatif de réserve (Amérique), Mexique, Brésil, Chili, Colombie, Venezuela, Guatemala, Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa-Rica, Panama, Haïti, Bolivie, Guyane, Equateur, Guyane-Française, Paraguay, Uruguay, Antilles-Néerlandaises, Bahamas, République-Dominicaine.

Asie Centrale : Afghanistan, Turkménistan, Ouzbékistan, Tadjikistan, Kirghizistan, Kazakhstan.

Asie de l'Est : Chine, Taiwan.

Asie du Sud : Inde, Bhoutan, Népal, Pakistan, Bangladesh, Lanka.

Asie du Sud-est & Pacifique : Brunei, Cambodge, Indonésie, Laos, Malaisie, Myanmar, Philippines, Singapour, Timor-Oriental, Vietnam, Thaïlande, Papouasie-Nouvelle-Guinée, Vanuatu, Wallis-et-Futuna, Polynésie-Française, Nouméa.

Cas de paludisme confirmé : infection à *Plasmodium* spp, symptomatique ou non, diagnostiqué sur le territoire métropolitain et confirmé au laboratoire (examen microscopique ou PCR).

Civil résident à l'étranger ou dans les DOM-TOM en zone d'endémie palustre : personne REZEP, à l'exclusion du personnel militaire (Civ_REZEP)

Civil résidant hors de France métropolitaine et hors zone d'endémie palustre : personne RHZEP, à l'exclusion du personnel militaire (Civ_RHZEP)

Civil résidant en France métropolitaine : RFM, à l'exclusion du personnel militaire (Civ_RFM)

Co-infection : présence simultanée dans le sang, à l'examen microscopique ou en PCR de ≥ 2 espèces plasmodiales différentes

Date de diagnostic : date de la confirmation d'un cas de paludisme par un examen microscopique ou une PCR (cf cas de paludisme confirmé)

Date des symptômes : date de survenue des premiers symptômes de l'accès en cours

Délai d'apparition des symptômes : date des symptômes – date retour (par définition « 0 » si le début des symptômes survient avant le retour)

Délai de recours aux soins = date de la première consultation médicale - date symptômes

Délai diagnostic = date de diagnostic - date des symptômes

Doublon « biologique » de saisie : dossier biologique saisi à plusieurs reprises par un/des biologistes d'un même centre BCB, IMTSSA ou PSL

Doublon d'extraction : doublons générés par le logiciel (bug) à la suite de manipulations par les utilisateurs (corrigés dans la nouvelle version du logiciel voozano)

Doublon « épidémiologique » de saisie : dossier épidémiologique saisi à plusieurs reprises par un/des correspondants i/ d'un même hôpital = doublon intra hôpital (même correspondant ou ≥ 2 correspondants du même hôpital ou ii/ inter hôpitaux (correspondants différents, avec transfert ou consultation spontanée d'un patient dans un autre hôpital du réseau de correspondants du CNR du paludisme).

Échantillons multiples : échantillons biologiques successifs pour un même patient (impératif de noter la date de prélèvement le jour et le numéro d'échantillon)

Examen microscopique positif : présence de formes asexuées et/ou sexuées du genre *Plasmodium* objectivées par un examen microscopique au Frottis Sanguin Mince, à la Goutte Epaisse ou au Quantitative Buffy Coat (QBC) dans le sang (ou plus rarement une autre ponction ou biopsie : moelle, placenta...)

J0 pour « jour 0 » : correspond au jour de la prise en charge thérapeutique de l'accès palustre confirmé biologiquement. On considère cette confirmation biologique valide si i/ le diagnostic est réalisé dans un laboratoire du réseau de correspondants ii/ après confirmation écrite = transmission du résultat si le laboratoire ne fait pas partie du réseau (une lame du diagnostic peut être demandé selon les cas = laboratoire considéré comme peu expérimenté et aucun stigmat biologique d'une infection récente au moment de la prise en charge du patient dans un hôpital du réseau par exemple)

Militaire résident à l'étranger ou dans les DOM-TOM en zone d'endémie palustre : personne REZEP et personnel militaire, inclue le personnel de la gendarmerie- (PM_REZEP)

Militaire résident à l'étranger ou dans les DOM-TOM hors zone d'endémie palustre : personne RHZEP et personnel militaire inclue le personnel de la gendarmerie- (PM_RHZEP)

Militaire résident en France métropolitaine : résident en France métropolitaine et personnel militaire -inclus le personnel de la gendarmerie- (PM_RFM)

Moyen-Orient : Iran, Indiatif de réserve (Moyen Orient), Syrie, Irak, Arabie-Saoudite, Yémen, Oman, Emirats-Arabes-Unis, Bahreïn, Qatar

NA/REV : sujet qui est reparti en zone d'endémie et qui présente une infection survenant après le J30 de la mise en route d'un traitement curatif efficace de l'accès initial, à la même espèce que la première, pour les espèces *P. ovale* et *P. vivax*.

Nouvel accès (NA): deux situations distinctes i/ sujet qui n'est pas reparti en zone d'endémie et qui présente une infection survenant après le J30 de la mise en route d'un traitement curatif efficace et à une espèce différente de l'accès initial ii/ sujet qui est reparti en zone d'endémie et qui présente une infection survenant après le J30 de la mise en route d'un traitement curatif efficace à *P. falciparum* ou *P. knowlesi* d'un premier accès

Paludisme autochtone induit : cas de paludisme confirmé transmis sur le territoire métropolitain par l'intermédiaire d'un moyen artificiel (transfusion sanguine, aiguilles, greffe,...)

Paludisme autochtone introduit : cas de paludisme confirmé transmis sur le territoire métropolitain par un anophèle vecteur introduit (avion, bateau, bagages...)

Paludisme autochtone : cas de paludisme confirmé acquis en France métropolitaine

Paludisme cryptique : cas de paludisme confirmé pour lequel les investigations épidémiologiques ne permettent pas d'identifier un mode plausible d'acquisition

Paludisme du résident : paludisme importé en France métropolitaine, acquis par un sujet résident en zone d'endémie palustre

Paludisme du voyageur : paludisme importé en France métropolitaine, acquis par un sujet résident hors zone d'endémie palustre

Paludisme importé : cas de paludisme confirmé acquis hors de France métropolitaine dans une zone d'endémie palustre

PCR positive : amplification d'une portion de gène spécifique d'une espèce du genre *Plasmodium* dans le sang (ou plus rarement une autre ponction ou biopsie : moelle, placenta...)

Rechute : infection à la même espèce que la première, persistante ou survenant entre le J3 et le J30 de la mise en route d'un traitement curatif

Résident en France métropolitaine : personne vivant > 6 mois consécutifs de l'année en France métropolitaine, quelle que soit sa situation légale ou professionnelle (RFM).

Résident en zone d'endémie palustre : personne vivant > 6 mois consécutifs de l'année à l'étranger ou dans les DOM-TOM dans un pays situé **en** zone d'endémie palustre, quelle que soit sa situation légale ou professionnelle (REZEP). (cf tableau BEH)

Résident hors zone d'endémie palustre : personne vivant > 6 mois consécutifs de l'année à l'étranger ou dans les DOM-TOM dans un pays situé **hors** zone d'endémie palustre, quelle que soit sa situation légale ou professionnelle (RHZEP). (cf tableau BEH)

Reviviscence (REV) : infection survenant plus de 30 jours après la mise en route d'un traitement curatif efficace d'un accès initial, due à la même espèce que la première, pour les espèces *P. ovale*, *P. vivax*, chez un sujet qui n'est pas reparti en zone d'endémie

Voyageur en zone d'endémie : sujet RFM ou RHZEP et ayant effectué un séjour de moins de 6 mois en zone d'endémie pour le paludisme

Période couverte

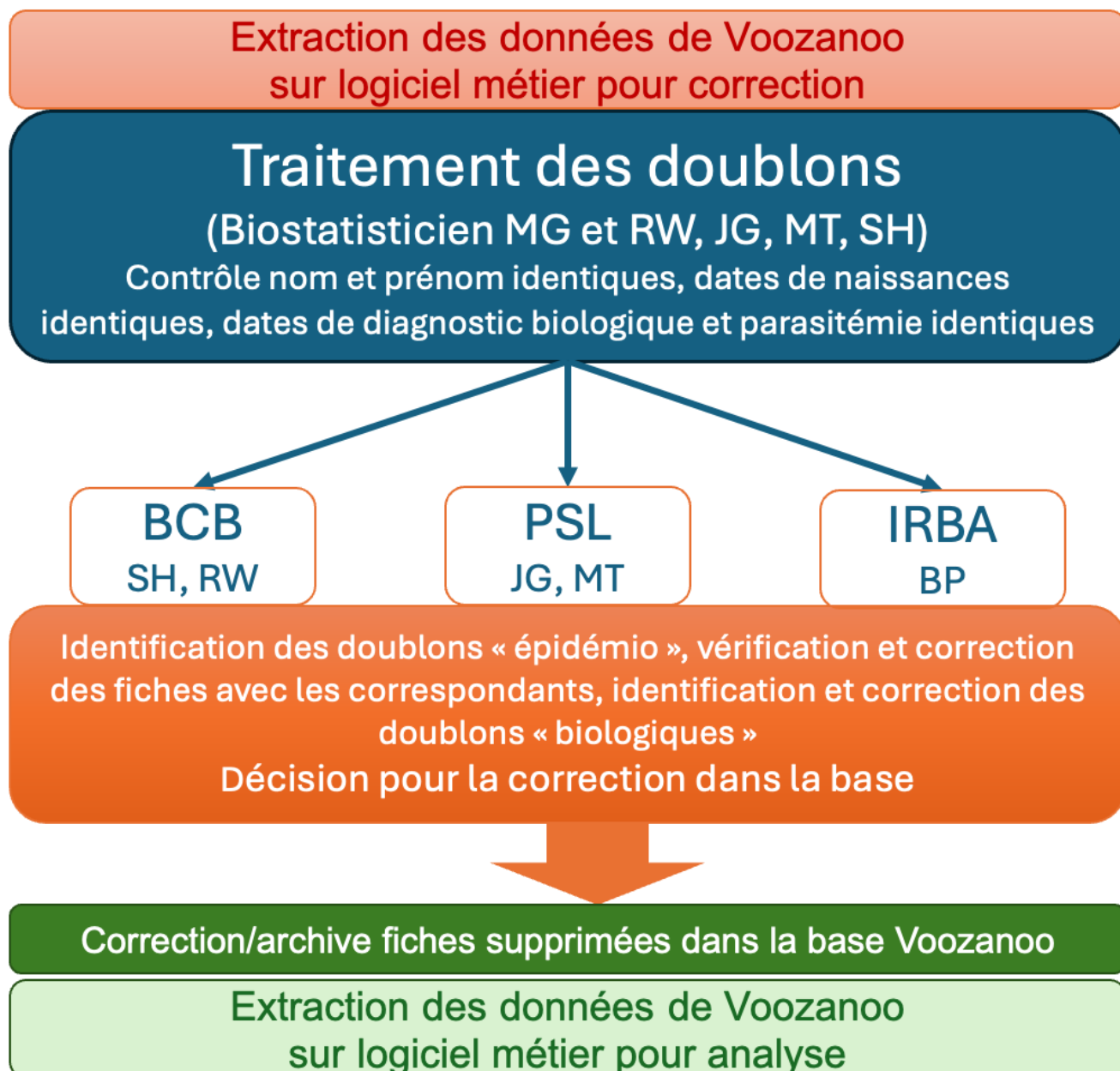
Du premier janvier au 31 décembre 2012 inclus

Diagnostic de laboratoire par les correspondants : le diagnostic de base est réalisé par un frottis sanguin mince et une goutte épaisse ou un QBC. La PCR est réalisée dans certaines structures spécialisées

Validation des données de la base :

Après application des définitions décrites, le contrôle de saisie, la cohérence des données et les tests de vraisemblance ont été réalisés sur la base de données.

Après identification des différents types de doublons dans la base, le dédoublonnage, la correction des données et l'archivage ont permis l'obtention d'un fichier unique de travail pour l'ensemble des analyses nécessaires à la production du rapport (figure 1).



MG : Maelle Gabelus, RW : Roger Wumba, JG : Jessicka Gemegah, MT : Marc Thellier, SH : Sandrine Houzé

Figure 10 : Stratégie de contrôle des données saisies et de traitement des doublons

Annexe 8 : Présentation des valeurs de chimiosensibilités, isolats africains 2017-2024

En 2024, à partir des 460 isolats reçus dans les laboratoires de Bichat, de l'IRBA et de Cayenne, répondant aux critères de qualité pour les analyses de phénotypage, des valeurs de CI_{50} vis-à-vis des antipaludiques testés ont été obtenues pour 344 isolats.

8.1 La Chloroquine

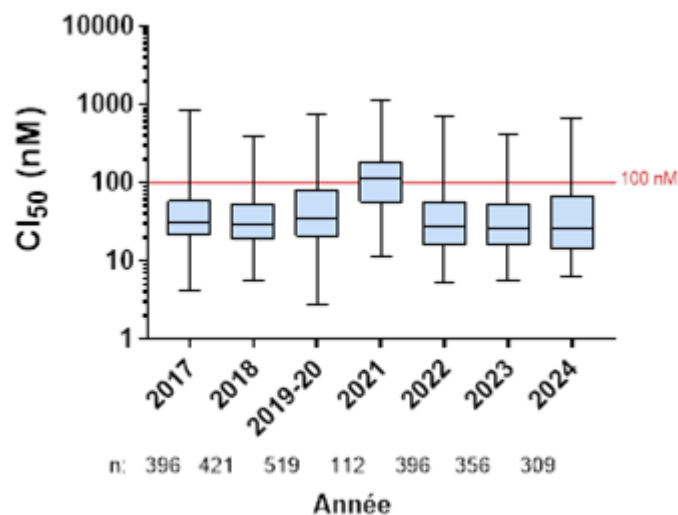


Figure 11 : Evolution des chimiosensibilités à la chloroquine de 2017 à 2024

La ligne rouge représente le seuil de résistance à 100 nM (Dedet et al., 1988).

8.2 La Quinine

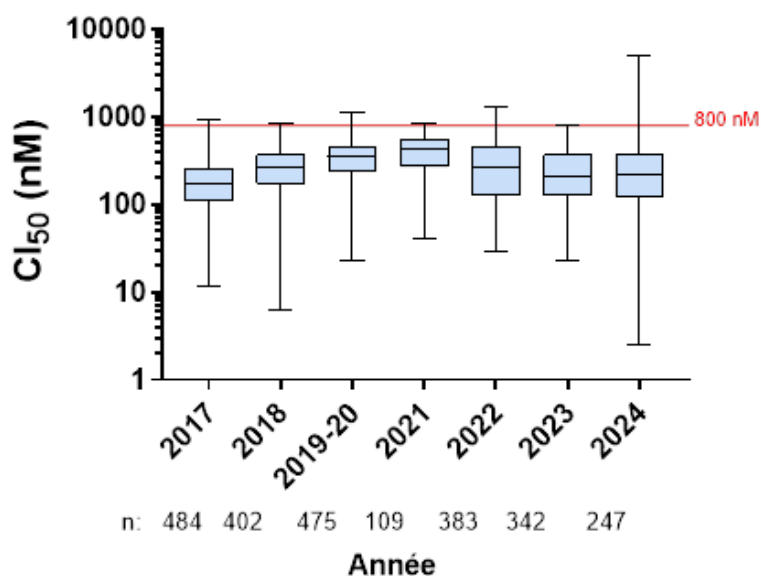


Figure 12 : Evolution des chimiosensibilités à la quinine entre 2017 et 2024

La ligne rouge représente le seuil de résistance à 800 nM (Basco and Le Bras, 1994).

8.3 La Dihydro-artémisinine

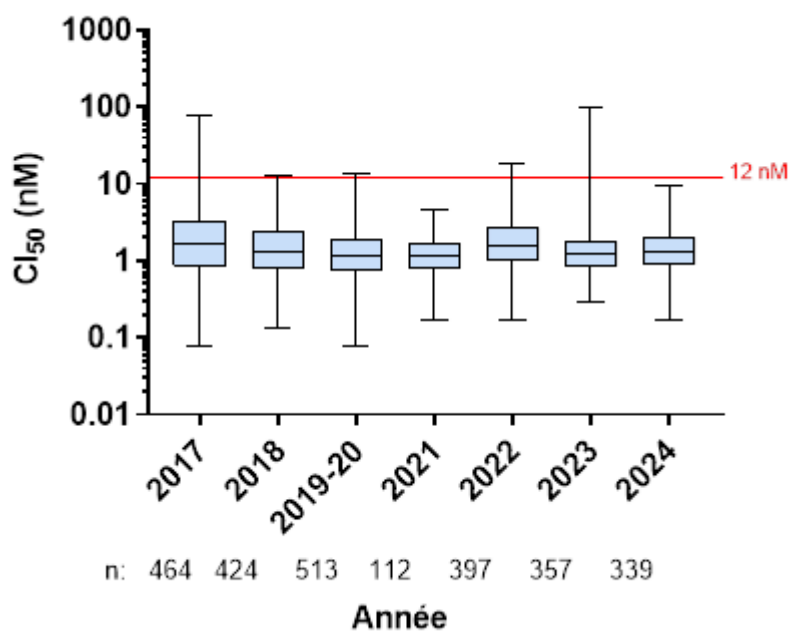


Figure 13 : Evolution des chimiosensibilités à la dihydroartémisinine entre 2017 et 2024
La ligne rouge représente le seuil de résistance à 12 nM (Basco & Le Bras, 1993).

8.4 La Mono-déséthyl-amodiaquine

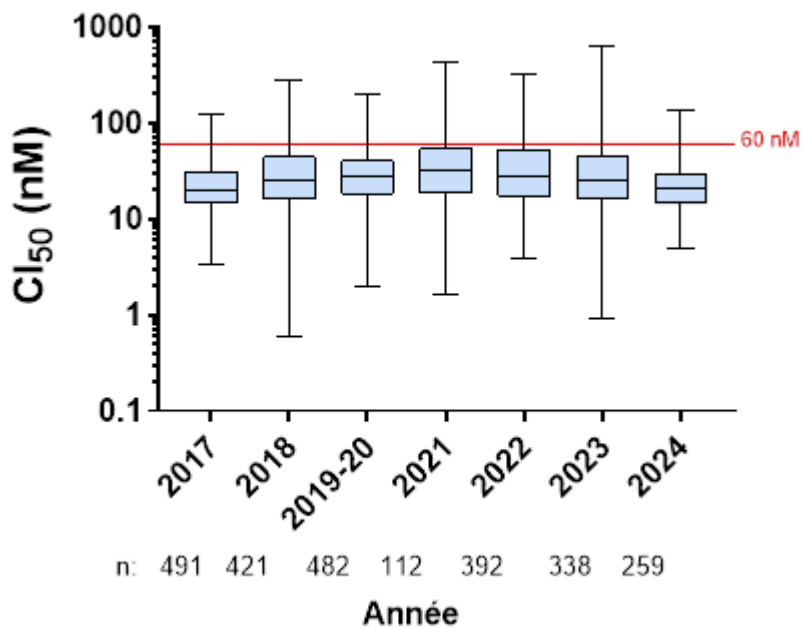


Figure 14 : Evolution des chimiosensibilités à la Mono déséthyl-amodiaquine entre 2017 et 2024
La ligne rouge représente le seuil de résistance de 60 nM (Ringwald et al., 1998).

8.5 La Luméfántrine

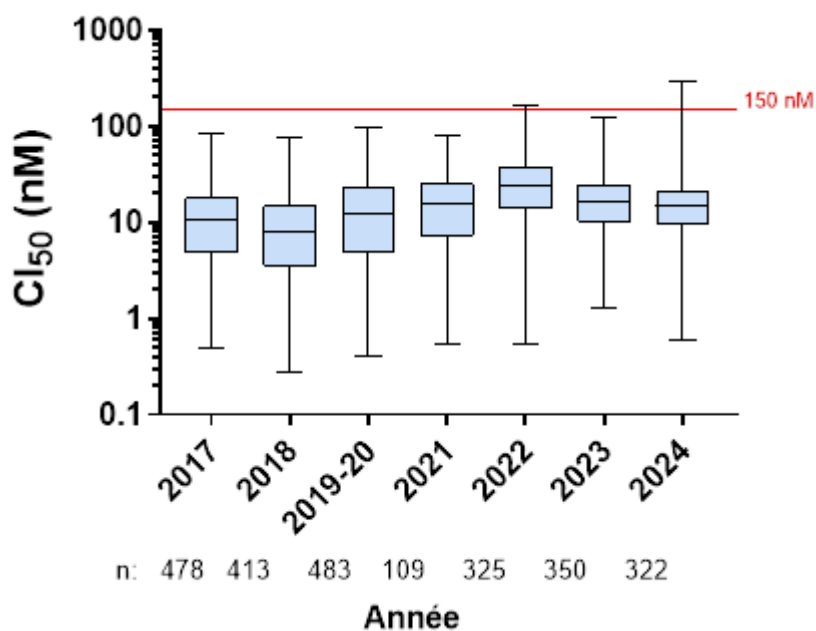


Figure 15 : Evolution des chimiosensibilités à la luméfántrine entre 2017 et 2024
La ligne rouge représente le seuil de résistance à 150 nM (Pradines et al., 1999).

8.6 La Pipéraquine

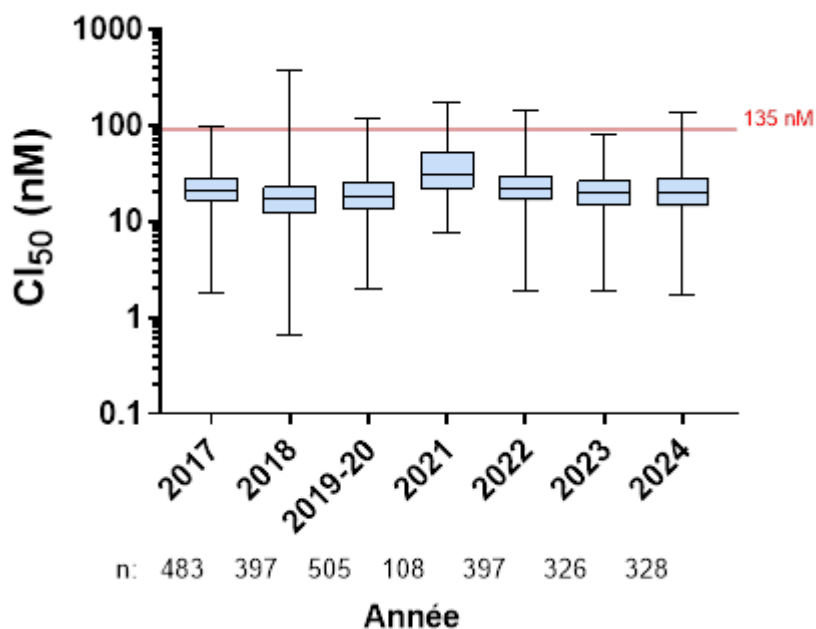


Figure 16 : Evolution des chimiosensibilités à la pipéraquine entre 2017 et 2024
La ligne rouge représente le seuil de résistance à 135 nM (Amato et al., 2017).

8.7 La Méfloquine

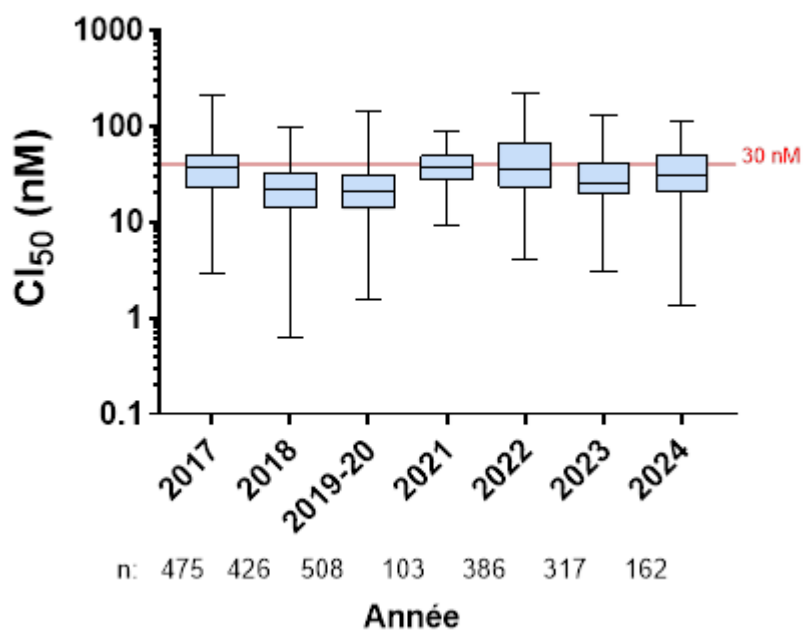


Figure 17 : Evolution des chimiosensibilités à la méfloquine entre 2017 et 2024
 La ligne rouge représente le seuil de résistance à 30 nM (Brasseur et al., 1990).

8.8 La doxycycline

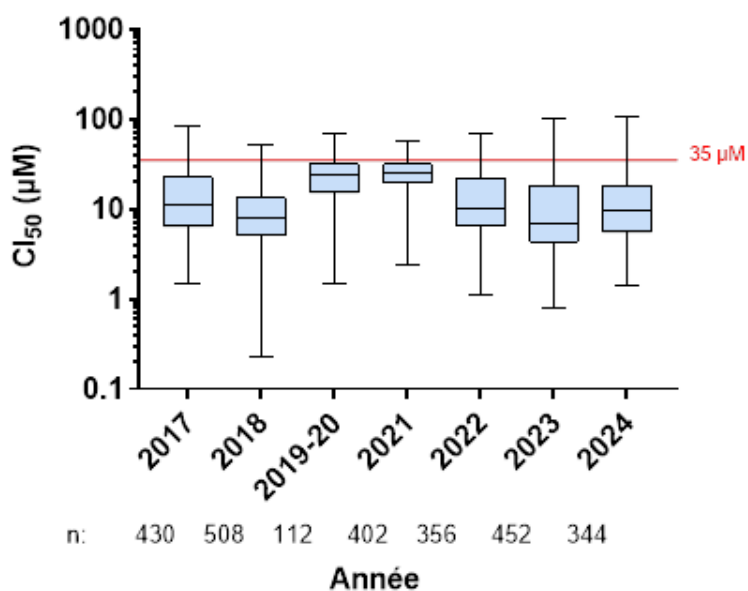
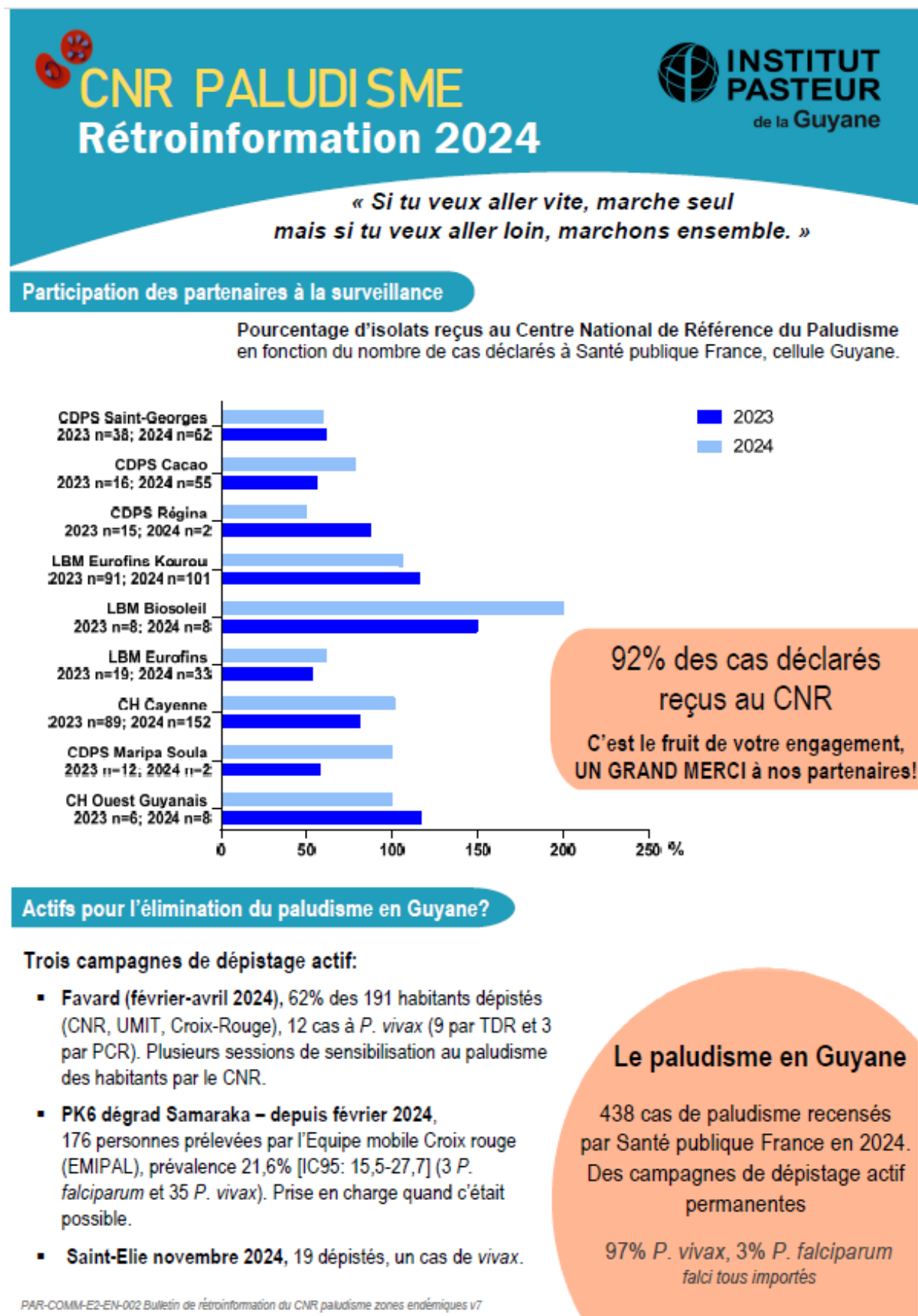


Figure 18 : Evolution des chimiosensibilités à la doxycycline entre 2017 et 2024
 La ligne rouge représente le seuil de résistance à 35µM (Briolant et al., 2009).

Annexe 9 : Bulletin de rétro information Guyane 2024


Actifs pour l'élimination du paludisme en Guyane?

Le paludisme en Guyane

438 cas de paludisme recensés par Santé publique France en 2024. Des campagnes de dépistage actif permanentes

97% *P. vivax*, 3% *P. falciparum*
falci tous importés



CNR PALUDISME

Rétroinformation 2024



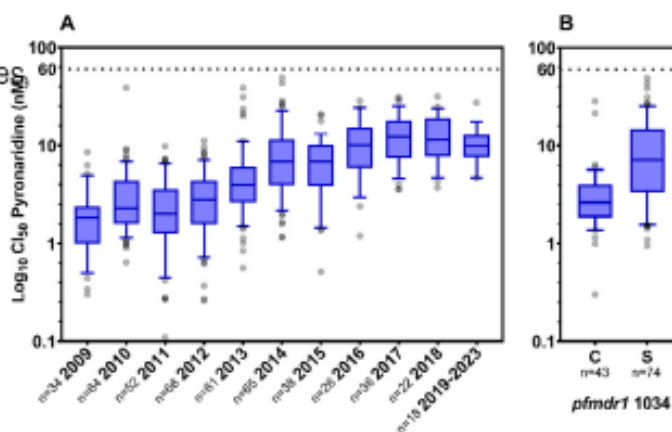
INSTITUT PASTEUR
de la Guyane

« Si tu veux aller vite, marche seul
mais si tu veux aller loin, marchons ensemble. »

Pyramax®, une alternative pour la Guyane?

Six associations à base de dérivés de l'artémisinine, quatre partiellement inefficaces **une sur qui tout repose** (artéméther/luméfantrine ou Riamet®), la dernière commercialisée (artésunate/pyronaridine) serait-elle utile?
(artésunate/pyronaridine) serait-elle utile?

- 482 isolats analysés, 100% sensibles
- Pas de résistance croisée
- Une mutation, *pfmdr1* C1034S qui impacte le niveau de sensibilité.



Mobilité des populations du bassin de l'Oyapock, impact sur la transmission?



Trehard et al., PLOS Glob Public Health, 2024

Analyse des facteurs de risque d'être impaludé en fonction des mouvements et activités de 1 192 habitants vivant dans les quartiers impaludés de St Georges de l'Oyapock en 2017/2018. Parmi les risques d'être impaludé figuraient:

- La densité vectorielle autour des habitations, OR = 4,11.
- La pratique de l'agriculture, OR = 1,96.
- Les voyages en terres amérindiennes brésiliennes de la Cabo Orange, OR = 1,76.

Importance d'une coordination avec les équipes de lutte contre le paludisme de l'Etat d'Amapá.

Partenaires du réseau de surveillance du paludisme en Guyane

- Groupe de coopération sanitaire (Hôpitaux de Cayenne, Kourou et St Laurent) - Laboratoires de Biologie Médicale Biosoleil et Eurofins - Service de Santé des Forces Armées de Guyane - Centres Délocalisés de Prévention et de Soins.

Contact : CNR du Paludisme, Centre collaborateur de l'OMS pour la surveillance des résistances aux antipaludiques - Institut Pasteur de la Guyane.

Lise Musset, 05 94 29 68 40 - Yassamine Lazrek-Sandot, 05 94 29 26 12

cnrpaludisme@pasteur-cayenne.fr

