



**HAL**  
open science

# Epidémiologie moléculaire et génétique des populations de *Plasmodium falciparum* dans l'archipel des Comores. Implications pour la lutte antipaludique.

Stanislas Rebaudet

► **To cite this version:**

Stanislas Rebaudet. Epidémiologie moléculaire et génétique des populations de *Plasmodium falciparum* dans l'archipel des Comores. Implications pour la lutte antipaludique.. Autre [q-bio.OT]. Université de la Méditerranée - Aix-Marseille II, 2009. Français. NNT: . tel-00514306

**HAL Id: tel-00514306**

**<https://theses.hal.science/tel-00514306>**

Submitted on 1 Sep 2010

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE LA MEDITERRANEE  
FACULTE DE MEDECINE DE MARSEILLE

**EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE ET GENETIQUE DES  
POPULATIONS DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* DANS  
L'ARCHIPEL DES COMORES.  
IMPLICATIONS POUR LA LUTTE ANTIPALUDIQUE**

**T H E S E**

Présentée et publiquement soutenue devant

**LA FACULTE DE MEDECINE DE MARSEILLE**

**Le 25 juin 2009**

**Par Stanislas REBAUDET**

Né le 29/05/1978 à Ste Foy-les-Lyon

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine  
D.E.S. de Médecine Interne

**Membres du Jury de la Thèse :**

Monsieur le Professeur Jean DELMONT	Président
Monsieur le Professeur Renaud PIARROUX	Assesseur
Monsieur le Professeur Christophe ROGIER	Assesseur
Monsieur le Docteur Stéphane RANQUE	Assesseur



# UNIVERSITE DE LA MEDITERRANEE AIX-MARSEILLE II

**Président : Yvon BERLAND**

## FACULTE DE MEDECINE

**Doyen : Jean-François PELLISSIER**

**Vice-Doyen : Jean-Robert HARLE**

**Assesseurs :**

- \* aux Etudes : Pierre CHAMPSAUR
- \* à la Recherche : Jean-Paul BERNARD
- \* auprès des Personnels : Roger GIUDICELLI et Georges LEONETTI
- \* pour la Formation Médicale Continue : Patrick DISDIER
- \* pour le Secteur Nord : Alain ENJALBERT et Yves FRANCES
- \* aux Relations avec les Etablissements de soins : Gérard SEBAHOUN

**Chargés de mission :**

- \* 1<sup>er</sup> cycle : Pierre CHAMPSAUR
- \* 2<sup>ème</sup> cycle : Pierre CHAMPSAUR et Jean-Michel VITON
- \* 3<sup>ème</sup> cycle - Médecine Générale : Jean-Robert HARLE
- \* 3<sup>ème</sup> cycle - Médecine Spécialisée : Gilles BOUVENOT
- \* Licences-Masters-Doctorats : Jean-Louis MEGE
- \* Internat : Gilbert HABIB
- \* Relations Internationales : Jean-Marc DURAND
- \* DU - DIU : Patrick VILLANI
- \* Technologies de l'Information et de la Communication appliquées à l'Enseignement : Marius FIESCHI
- \* Formations universitaires professionnalisées : Roland SAMBUC
- \* Relations avec les formations aux métiers de la santé : Jean-Michel BARTOLI
- \* Sciences humaines et sociales : Georges LEONETTI

**Chef des services généraux :**

- \* Frédéric BESSIERE

**Chefs de service :**

- \* Personnel et Traitements : Nathalie TRUPHEMES/ADELLACH
- \* Financier : Laurent NOE
- \* Scolarité : Myriam TORRE
- \* Centre de Gestion Informatique et Réseaux : Philippe TOURRON
- \* Technique : Yann BRIEUSSEL
- \* Intérieur : José MANICCIA
- \* Chargé des Marchés Publics : Marion CORBEL

### DOYENS HONORAIRES

M. Gérard GUERINEL  
M. Yvon BERLAND  
M. André ALI CHERIF

## PROFESSEURS HONORAIRES

MM.	ALDIGHERI René	MM.	HASSOUN Jacques
	AQUARON Robert		HOUEL Jean
	ARGEME Maxime		HUGUET Jean-François
	ASSADOURIAN Robert		JAQUET Philippe
	BAILLE Yves		JOUBE Paulette
	BARDOT André		JUHAN Claude
	BERARD Pierre		JUIN Pierre
	BERGOIN Maurice		KAPHAN Gérard
	BERNARD Dominique		KASBARIAN Michel
	BERNARD Pierre-Jean		KHALIL Richard
	BERNARD Pierre-Marie		KLEISBAUER Jean-Pierre
	BERTRAND Edmond		LACHARD Jean
	BISSET Jean-Pierre		LAFFARGUE Pierre
	BONNEAU Henri		LEGRE Jacques
	BONNOIT Jean		LEVY Samuel
	BORY Michel		LOUCHET Edmond
	BOURGEADE Augustin		LOUIS René
	BOUTIN Christian		LUCCIONI Roger
	BOUYALA Jean-Marie		LUCIANI Jean-Marie
	BREMOND Georges		MALMEJAC Claude
	BRICOT René		MARCHAND Jean-Pierre
	BUREAU Henri		MERCIER Claude
	CANNONI Maurice		METGE Paul
	CARCASSONNE Yves		MICHOTÉY Georges
	CARTOUZOU Guy		MILLET Yves
	CHAMLIAN Albert		MIRANDA François
	CHARREL Michel		MONFORT Gérard
	CHOUX Maurice		MONGES André
	CIANFARANI François		MONGIN Maurice
	CLEMENT Robert		MONTIES Jean-Raoul
	CODACCIONI Jean-Louis		NICOLI René
	COMBALBERT André		NOIRCLERC Michel
	CORRIOL Jacques		OLMER Michel
	COTTE Gérard		PAPY Jean-Jacques
	DALMAS Henri		PAULIN Raymond
	DESANTI Etienne		PECH André
	DEVIN Robert		PELLET William
	DONNET Vincent		PELOUX Yves
	DUCASSOU Jacques		PENE Pierre
	DUFOUR Henri		PENAUD Antony
	DUFOUR Michel		PERRIMOND Henri
	FARISSE Jacques		PIANA Lucien
	FARNARIER Georges		PICAUD Robert
	FIGARELLA Jacques		PIGNOL Fernand
	FRANCOIS Georges		POGGI Louis
	GABRIEL Bernard		POYEN Danièle
	GALINIER Louis		PRIVAT Yvan
	GALLAIS Hervé		RANQUE Jacques
	GARCIN Michel		RANQUE Philippe
	GASCARD Emile		RAYBAUD Charles
	GAUTHIER André		RAYBAUD Claude
	GERARD Raymond		REBOUD Eugène
	GEROLAMI-SANTANDREA André		RICHAUD Christian
	GIRAUD Francis		ROCHAT Hervé
	GIUDICELLI Sébastien		ROHNER Jean-Jacques
	GOUDARD Alain		ROUX Hubert
	GRIMAUD Charles		RUF Henri
	GROULIER Pierre		SALAMON Georges
	GUERINEL Gérard		SALDUCCI Jacques
	HADIDA/SAYAG Jacqueline		SANKALE Marc
	SARLES Henry		SARACCO Jacques
	SARLES Jean-Claude		TAMALET Jacques

## **PROFESSEURS HONORAIRES**

SCOTTO Jean-Claude  
SEITE Raymond  
SERRATRICE Georges  
SOULAYROL René  
STAHL André

TOURNIGAND Pierre  
TRIFAUD André  
UNAL Daniel  
VAGUE Philippe  
VANUXEM Paul  
VIGOUROUX Robert

## DOCTEURS HONORIS CAUSA

**1967**

MM. les Professeurs DADI (Italie)  
CID DOS SANTOS (Portugal)

**1974**

MM. les Professeurs MAC ILWAIN (Grande-Bretagne)  
T.A. LAMBO (Suisse)

**1975**

MM. les Professeurs O. SWENSON (U.S.A.)  
Lord J.WALTON of DETCHANT (Grande-Bretagne)

**1976**

MM. les Professeurs P. FRANCHIMONT (Belgique)  
Z.J. BOWERS (U.S.A.)

**1977**

MM. les Professeurs C. GAJDUSEK-Prix Nobel (U.S.A.)  
C.GIBBS (U.S.A.)  
J. DACIE (Grande-Bretagne)

**1978**

M. le Président F. HOUPHOUET-BOIGNY (Côte d'Ivoire)

**1980**

MM. les Professeurs A. MARGULIS (U.S.A.)  
R.D. ADAMS (U.S.A.)

**1981**

MM. les Professeurs H. RAPPAPORT (U.S.A.)  
M. SCHOU (Danemark)  
M. AMENT (U.S.A.)  
Sir A. HUXLEY (Grande-Bretagne)  
S. REFSUM (Norvège)

**1982**

M. le Professeur W.H. HENDREN (U.S.A.)

**1985**

MM. les Professeurs S. MASSRY (U.S.A.)  
KLINSMANN (R.D.A.)

**1986**

MM. les Professeurs E. MIHICH (U.S.A.)  
T. MUNSAT (U.S.A.)  
LIANA BOLIS (Suisse)  
L.P. ROWLAND (U.S.A.)

**1987**

M. le Professeur P.J. DYCK (U.S.A.)

**1988**

MM. les Professeurs R. BERGUER (U.S.A.)  
W.K. ENGEL (U.S.A.)  
V. ASKANAS (U.S.A.)  
J. WEHSTER KIRKLIN (U.S.A.)  
A. DAVIGNON (Canada)  
A. BETTARELLO (Brésil)

**1989**

M. le Professeur P. MUSTACCHI (U.S.A.)

## DOCTEURS HONORIS CAUSA

**1990**

MM. les Professeurs J.G. MC LEOD (Australie)  
J. PORTER (U.S.A.)

**1991**

MM. les Professeurs J. Edward MC DADE (U.S.A.)  
W. BURGDORFER (U.S.A.)

**1992**

MM. les Professeurs H.G. SCHWARZACHER (Autriche)  
D. CARSON (U.S.A.)  
T. YAMAMURO (Japon)

**1994**

MM. les Professeurs G. KARPATI (Canada)  
W.J. KOLFF (U.S.A.)

**1995**

MM. les Professeurs D. WALKER (U.S.A.)  
M. MULLER (Suisse)  
V. BONOMINI (Italie)

**1997**

MM. les Professeurs C. DINARELLO (U.S.A.)  
D. STULBERG (U.S.A.)  
A. MEIKLE DAVISON (Grande-Bretagne)  
P.I. BRANEMARK (Suède)

**1998**

MM. les Professeurs O. JARDETSKY (U.S.A.)

**1999**

MM. les Professeurs J. BOTELLA LLUSIA (Espagne)  
D. COLLEN (Belgique)  
S. DIMAURO (U. S. A.)

**2000**

MM. les Professeurs D. SPIEGEL (U. S. A.)  
C. R. CONTI (U.S.A.)

**2001**

MM. les Professeurs P-B. BENNET (U. S. A.)  
G. HUGUES (Grande Bretagne)  
J-J. O'CONNOR (Grande Bretagne)

**2002**

MM. les Professeurs M. ABEDI (Canada)  
K. DAI (Chine)

**2003**

M. le Professeur Sir T. MARRIE (Canada)  
G.K. RADDI (Grande Bretagne)

**2004**

M. le Professeur M. DAKE (U.S.A.)

**2005**

M. le Professeur L. CAVALLI-SFORZA (U.S.A.)

**2006**

M. le Professeur A. R. CASTANEDA (U.S.A.)

**2007**

M. le Professeur S. KAUFMANN (Allemagne)

# EMERITAT

**2007**

M. le Professeur

LEVY Samuel

## PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AGOSTINI Serge (disponibilité)	COLLART Frédéric	GUIEU Régis
ALBANESE Jacques	CONRATH John	GUYOT Laurent
ALESSANDRINI Pierre	CONTE-DEVOLX Bernard	GUYSS Jean-Michel
ALI CHERIF André	COSTELLO Régis	HABIB Gilbert
ALIMI Yves	COULANGE Christian	HARDWIGSEN Jean
ALLIEZ Bernard	COWEN Didier	HARLE Jean-Robert
AMBROSI Pierre	COZZONE Patrick	HEIM Marc
ARGENSON Jean-Noël	CRAVELLO Ludovic	HENRY Jean-François
ASTOUL Philippe	CURVALE Georges	HOUVENAEGHEL Gilles
AUBANIAC Jean-Manuel	DANIEL Laurent	JAMMES Yves
AUFFRAY Jean-Pierre	D'ERCOLE Claude	JOLIVET/BADIER Monique
AUQUIER Pascal	DE LAGAUSIE Pascal	JOUVE Jean-Luc
AUTILLO/TOUATI Amapola	DE MICCO Philippe	KAPLANSKI Gilles
AVIERINOS Jean-François	DEHARO Jean-Claude	KERBAUL François
AZORIN Jean-Michel	DELARQUE Alain	KREITMANN Bernard
AZULAY Jean-Philippe	DELMONT Jean	LAFFORGUE Pierre
BAILLY Daniel	DELPERO Jean-Robert	LANCON Christophe
BARDOT Jacques	DENIS Danièle	LA SCOLA Bernard
BARTHET Marc	DESSEIN Alain	LAUGIER René
BARTOLI Jean-Michel	DESSI Patrick	LAVIEILLE Jean-Pierre
BARTOLIN Robert	DEVRED Philippe	LE TREUT Yves-Patrice
BERBIS Philippe	DI MARINO Vincent	LECHEVALLIER Eric
BERDAH Stéphane	DISDIER Patrick	LEGRE Régis
BERLAND Yvon	DJIANE Pierre	LEONETTI Georges
BERNARD Jean-Louis	DODDOLI Christophe	LEVRIER Olivier
BERNARD Jean-Paul	DRANCOURT Michel	LEVY Nicolas
BERTUCCI François	DUBUS Jean-Christophe	MAGALON Guy
BLADOU Franck	DUFFAUD Florence	MAGNAN Jacques
BLAISE Didier	DUFOUR Henry	MAGNAN Pierre-Edouard
BLANC Bernard	DUMON Henri	MALLAN/MANCINI Josette
BLANC Jean-Louis	DURAND Jean-Marc	MANELLI Jean-Claude
BLIN Olivier	DUSSOL Bertrand	MARANINCHI Dominique
BOLLINI Gérard	ENJALBERT Alain	MARTIN Claude
BONERANDI Jean-Jacques	FAUGERE Gérard	MARTIN Pierre-Marie
BONGRAND Pierre	FAVRE Roger	MATTEI Jean-François
BONNET Jean-Louis	FELICIAN Olivier	MEGE Jean-Louis
BOTTA Alain	FIESCHI Marius	MERROT Thierry
BOTTA/FRIDLUND Danielle	FIGARELLA/BRANGER Dominique	METRAS Dominique
BOUBLI Léon	FONTES Michel	MEYER/DUTOUR Anne
BOUVENOT Gilles	FRAISSE Alain	MICHEL Gérard
BRANCHEREAU Alain	FRANCES Yves	MONCLA Anne
BRETELLE Florence	FUENTES Pierre	MOULIN Guy
BROUQUI Philippe	GABERT Jean	MOUTARDIER Vincent
BRUDER Nicolas	GAINNIER Marc	MUNDLER Olivier
BRUE Thierry	GAMERRE Marc	NAUDIN Jean
BRUGUEROLLE Bernard	GARNIER Jean-Marc	NAZARIAN Serge
BRUNET Christian	GASTAUT Albert	NICCOLI/SIRE Patricia
BRUNET Philippe	GASTAUT Jean-Louis	NICOLAS DE LAMBALLERIE X.
CAMBOULIVES Jean	GERBEAUX Patrick	NICOLI François
CARAYON Pierre	GILBERT/ALESSI Marie-Christine	OLIVE Daniel
CASANOVA Dominique	GIOVANNI Antoine	OLIVER Charles
CAU Pierre	GIRARD Nadine	OREHEK Jean
CECCALDI Mathieu	GIRAUD/CHABROL Brigitte	OUAFIK L'Houcine
CHABOT Jean-Michel	GIUDICELLI Roger	PAGANELLI Franck
CHAGNAUD Christophe	GOUIN François	PANUEL Michel
CHAMBOST Hervé	GRANEL/REY Brigitte	PAPAZIAN Laurent
CHAMPSAUR Pierre	GRILLO Jean-Marie	PAUT Olivier
CHARPIN Denis	GRIMAUD Jean-Charles	PELLETIER Jean
CHAUVEL Patrick	GRISOLI François	PELLISSIER Jean-François
CHOSSEGROS Cyrille	GROB Jean-Jacques	PERAGUT Jean-Claude
CLAVERIE Jean-Michel	GUICHAOUA Marie-Roberte	PETIT Philippe
PIQUET Philippe	SAMBUC Roland	VAGUE/JUHAN Irène

## **PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS**

POINSO François	SAN MARCO Jean-Louis	VERVLOET Daniel
POITOUT Dominique	SARLES Jacques	VIALETES Bernard
PONCET Michel	SARLES/PHILIP Nicole	VIENS Patrice
POUGET Jean	SASTRE Bernard	VILLANI Patrick
QUILICHINI Francis	SCHIANO DE TAGLIACUOLLO Alain	VITON Jean-Michel
RACCAH Denis	SEBAHOUN Gérard	VIVIER Eric
RAOULT Didier	SEITZ Jean-François	WEILLER Pierre-Jean
REGIS Jean	SERMENT Gérard	XERRI Luc
REYNAUD/GAUBERT Martine	SIELEZNEFF Igor	ZANARET Michel
RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth	SIMEONI Umberto	
RIDINGS Bernard	SOUBEYRAND Jacques	
ROCHE Pierre-Hugues	STEIN Andréas	
ROCHWERGER Richard	TARANGER Colette	
ROSSI Dominique	THIRION Xavier	
ROUDIER Jean	THOMAS Pascal	
ROUX Michel	THOMASSIN Jean-Marc	
RUFO Marcel	TRIGLIA Jean-Michel	
SAHEL José	TROPIANO Patrick	
SAINTY Jean-Marie	TSIMARATOS Michel	

---

## **PROFESSEUR DES UNIVERSITES**

CHABANNON Christian  
DUTOUR Olivier  
FERON François  
RANJEVA Jean-Philippe  
SOBOL Hagay

## **PROFESSEUR CERTIFIE**

BRANDENBURGER Chantal

## **PRAG**

TANTI-HARDOUIN Nicolas

## **PROFESSEUR ASSOCIE DE MEDECINE GENERALE A MI-TEMPS**

BOURGEOIS Michel

## **PROFESSEUR ASSOCIE A TEMPS PARTIEL**

BURKHART Gary

## MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

ANDRAC/MEYER Lucile	FAUGERE Bernard	PAGIS/DE MICCO Catherine
ARNAUD Christiane	FENOLLAR Florence	PAROLA Philippe
ATLAN Catherine ( <i>disponibilité</i> )	FERNANDEZ Carla	PAULMYER/LACROIX Odile
BALIQUE Hubert ( <i>détachement</i> )	FICHET Bernard	PAYAN/DEFAIS Marie-Josée
BANDINI/MOULY Annick	FOBY/FRANCK Jacqueline	PELISSIER/ALICOT Anne-Laure
BARLESI Fabrice	FOURNIER Pierre-Edouard	PERRIN/RUPRICH-ROBERT Jeanne
BARLIER/SETTI Anne	FRERE Corinne	PEYROT Jacques
BARTHELEMY Pierre	GARCIA Stéphane	PIERCECCHI/MARTI Marie-Dominique
BARTOLI Christophe	GASTALDI Marguerite	<i>PIGNON Thierry (disponibilité)</i>
BARTOLOMEI Fabrice	GAUDART Jean	PIRRO Nicolas
BASTIDE Cyrille	GAVARET Martine	PLANCHE Denis
BECHIS Guy	GENTILE Stéphanie	PLANELLS Richard
BERGE-LEFRANC Jean-Louis	GEROLAMI/SANTANDREA René	POMMIER Gilbert
BERNARD Rafaëlle	GIORGI Roch	RANCHIN/MONGES Geneviève
BIMAR Marie-Christine	GIUSIANO Bernard	RANQUE Stéphane
BLANQUET France	GONCALVES Anthony	REY Marc
BLONDAUX/GUILLOT Chantal	GUIDON Catherine	ROBAGLIA/SCHLUPP Andrée
BOUCRAUT Joseph	GUIS Sandrine	ROLL Patrice
BOULLU/CIOCCA Sandrine	GULIAN Jean-Robert	ROUX François
BREGEON Fabienne	HAVLIK Patrick	SANCHEZ Elie
CALAS/AILLAUD Marie-Françoise	JOUBERT Michel	SARI/MINODIER Irène
CAMILLERI Serge	KOPP Francis	SAVEANU Alexandru
CASSABALIAN/GULIAN Christiane	LABIT/BOUVIER Corinne	SIMON Nicolas
CHARAFE/JAUFFRET Emmanuelle	LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina	SOULA Gérard
CHARREL Rémi	LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude	TAIEB David
CHAUDET Hervé	LE HUCHER-MICHEL Marie-Pascale	TOGA/PIQUET Caroline
CHIARONI Jacques	LE POUILLAIN/MALLET Marie-Noëlle	TOGA/ZAMMIT Isabelle
CHICHEPORTICHE Colette	LEJEUNE Pierre-Jean	VALLI Marc
CHINOT Olivier	LEPIDI Hubert	VIEHWEGER Heide Elke
COZE Carole	LEVY/MOZZICONACCI Annie	VION-DURY Jean
DADOUN Frédéric	MALLET Bernard	ZATTARA/CANNONI Hélène
DALES Jean-Philippe	MARCANTELLI/SAINTY Danielle	
DEGEORGES/VITTE Joëlle	MARGOTAT Alain	
DEL VOLGO/GORI Marie-José	<i>MARIN Valérie (disponibilité)</i>	
DELPierre Stéphane	MARY Charles	
DESPLAT/JEGO Sophie	METELLUS Philippe	
<i>DIGUE Laurence (disponibilité)</i>	METZLER/GUILLEMAIN Catherine	
DRIER DE LA FORTE Catherine	MICALLEF/ROLL Joëlle	
DUFOUR Jean-Charles	MOHTY Mohamad	
FARAUT Françoise	MORANGE Pierre-Emmanuel	
FARNARIER Guy	NOSNY/CHRESTIAN Marie-Anne	

### MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

(mono-appartenants)

ADALIAN Pascal	GIOCANTI Dominique	MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte
BERAUD/JUVEN Evelyne	GUILLAUME Viviane	NAVARRO André
BESSONE Richard	JORAND/NOEL Marie-Christine	PERRIER/FIESCHI Marie-Dominique
BOUCAULT/GARROUSTE Françoise	LE COZ Pierre	STEINBERG Jean-Guillaume
DEGIOANNI/SALLE Anna	LEROUX/MASSACRIER Annick	THOLLON Lionel
DESNUES Benoît	LIMERAT/BOUDOURESQUE Françoise	THIRION Sylvie
DUBOIS Christophe	MERCIER Georges	

### MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE à MI-TEMPS

FILIPPI Simon

GILLE Alain

LAURENT/MONTERO Françoise

### MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE à MI-TEMPS

ALTAVILLA Annagrazia

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES et MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS  
PROFESSEURS ASSOCIES, MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES mono-appartenants**

**ANATOMIE 4201**

BRUNET Christian (PU-PH)  
CHAMPSAUR Pierre (PU-PH)  
DI MARINO Vincent (PU-PH)  
NAZARIAN Serge (PU-PH)

PIRRO Nicolas (MCU-PH)

THOLLON Lionel (MCU) (60ème section Service Pr BRUNET C.)

**ANGLAIS 11**

BRANDENBURGER Chantal (PRCE)

BURKHART Gary (PAST)

**ANTHROPOLOGIE 20**

*DUTOUR Olivier (PU) (CRCT)*

ADALIAN Pascal (MCU)

DEGIOANNI/SALLE Anna (MCU)

**ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES 4203**

DANIEL Laurent (PU-PH)  
FIGARELLA/BRANGER Dominique (PU-PH)  
PELLISSIER Jean-François (PU-PH) en surnombre  
TARANGER Colette (PU-PH)  
XERRI Luc (PU-PH)

ANDRAC/MEYER Lucile (MCU-PH)  
CHARAFE/JAUFFRET Emmanuelle (MCU-PH)  
DALES Jean-Philippe (MCU-PH)  
FERNANDEZ Carla (MCU-PH)  
GARCIA Stéphane (MCU-PH)  
LABIT/BOUVIER Corinne (MCU-PH)  
NOSNY/CHRESTIAN Marie-Anne (MCU-PH)  
PAGIS/DE MICCO Catherine (MCU-PH)  
PAYAN/DEFAIS Marie-Josée (MCU-PH)  
RANCHIN/MONGES Geneviève (MCU-PH)

**BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE 4501**

DE MICCO Philippe (PU-PH)  
DRANCOURT Michel (PU-PH)  
NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier (PU-PH)  
LA SCOLA Bernard (PU-PH)  
RAOULT Didier (PU-PH)

CASSABALIAN/GULIAN Christiane (MCU-PH)  
CHARREL Rémi (MCU-PH)  
FENOLLAR Florence (MCU-PH)  
FOURNIER Pierre-Edouard (MCU-PH)  
LEPOULLAIN/MALLET Marie-Noëlle (MCU-PH)

DESNUES Benoit (MCU) ( 65ème section )

**ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE ;  
MEDECINE URGENCE 4801**

ALBANESE Jacques (PU-PH)  
AUFFRAY Jean-Pierre (PU-PH)  
BRUDER Nicolas (PU-PH)  
CAMBOULIVES Jean (PU-PH)  
*GOUIN François (PU-PH) en surnombre*  
KERBAUL François (PU-PH)  
MANELLI Jean-Claude (PU-PH)  
MARTIN Claude (PU-PH)  
PAUT Olivier (PU-PH)

BIMAR Marie-Christine (MCU-PH)  
GUIDON Catherine (MCU-PH)

**BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE 4401**

CARAYON Pierre (PU-PH)  
ENJALBERT Alain (PU-PH)  
GABERT Jean (PU-PH)  
GUIEU Régis (PU-PH)  
OUAFIK L'Houcine (PU-PH)

ARNAUD Christiane (MCU-PH)  
BARLIER/SETTI Anne (MCU-PH)  
BECHIS Guy (MCU-PH)  
GULIAN Jean-Robert (MCU-PH)  
LEJEUNE Pierre-Jean (MCU-PH)  
MALLET Bernard (MCU-PH)  
MARGOTAT Alain (MCU-PH)  
PLANELLS Richard (MCU-PH)  
SAVEANU Alexandru (MCU-PH)

AUTILLO/TOUATI Amapola (PU-PH)  
CAU Pierre (PU-PH)  
FONTES Michel (PU-PH)

GASTALDI Marguerite (MCU-PH)  
LEVY/MOZZICONNACCI Annie (MCU-PH)  
ROBAGLIA/SCHLUPP Andrée (MCU-PH)  
ROLL Patrice (MCU-PH)

DUBOIS Christophe (MCU) (65ème section)  
LEROUX/MASSACRIER Annick (MCU) (69ème section)

BERTUCCI François (PU-PH)  
COWEN Didier (PU-PH)  
DUFFAUD Florence (PU-PH)  
FAVRE Roger (PU-PH)  
HOUVENAEGHEL Gilles (PU-PH)  
MARANINCHI Dominique (PU-PH)  
MARTIN Pierre (PU-PH)  
VIENS Patrice (PU-PH)

CHINOT Olivier (MCU-PH)  
*DIGUE Laurence (MCU-PH) (Disponibilité)*  
GONCALVES Anthony (MCU-PH)  
*PIGNON Thierry (MCU-PH) (disponibilité)*

**BIOLOGIE ET MEDECINE DU DEVELOPPEMENT  
ET DE LA REPRODUCTION ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5405**

GUICHAOUA Marie-Roberte (PU-PH)

METZLER/GUILLEMAIN Catherine (MCU-PH)  
PERRIN Jeanne (MCU-PH)

**BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE 4301**

COZZONE Patrick (PU-PH)  
MUNDLER Olivier (PU-PH)

RANJEVA Jean-Philippe (PU) (69ème section)

CAMMILLERI Serge (MCU-PH)  
DRIER DE LA FORTE Catherine (MCU-PH)  
HAVLIK Patrick (MCU-PH)  
TAIEB David (MCU-PH)  
ROUX François (MCU-PH)  
VION-DURY Jean (MCU-PH)

**BIostatistiques, Informatique Médicale  
ET TECHNOLOGIES DE COMMUNICATION 4604**

CLAVERIE Jean-Michel (PU-PH)  
FIESCHI Marius (PU-PH)  
ROUX Michel (PU-PH)

CHAUDET Hervé (MCU-PH)  
DUFOR Jean-Charles (MCU-PH)  
FICHET Bernard (MCU-PH)  
GAUDART Jean (MCU-PH)  
GIORGI Roch (MCU-PH)  
GIUSIANO Bernard (MCU-PH)  
JOUBERT Michel (MCU-PH)  
SANCHEZ Elie (MCU-PH)  
SOULA Gérard (MCU-PH)

PERRIER/FIESCHI Marie-Dominique (MCU) (27ème section)

**CARDIOLOGIE 5102**

AVIERINOS Jean-François (PU-PH)  
BONNET Jean-Louis (PU-PH)  
DEHARO Jean-Claude (PU-PH)  
*DJIANE Pierre (PU-PH) en surnombre*

FRAISSE Alain (PU-PH)  
HABIB Gilbert (PU-PH)  
PAGANELLI Franck (PU-PH)

**CHIRURGIE DIGESTIVE 5202**

BERDAH Stéphane (PU-PH)  
HARDWIGSEN Jean (PU-PH)  
LE TREUT Yves-Patrice (PU-PH)  
*QUILICHINI Francis (PU-PH) en surnombre*  
SASTRE Bernard (PU-PH)  
SIELEZNEFF Igor (PU-PH)

**CHIRURGIE GENERALE 5302**

DELPERO Jean-Robert (PU-PH)  
HENRY Jean-François (PU-PH)  
MOUTARDIER Vincent (PU-PH)

**CHIRURGIE INFANTILE 5402**

ALESSANDRINI Pierre (PU-PH)  
BOLLINI Gérard (PU-PH)  
DE LAGAUSIE Pascal (PU-PH)  
GUYS Jean-Michel (PU-PH)  
JOUVE Jean-Luc (PU-PH)  
MERROT Thierry (PU-PH)

VIEHWEGER Heide Elke (MCU-PH)

**CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE ET STOMATOLOGIE 5503**

BLANC Jean-Louis (PU-PH)  
CHOSSEGROS Cyrille (PU-PH)  
GUYOT Laurent (PU-PH)

**CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE 5002**

ARGENSON Jean-Noël (PU-PH)  
AUBANIAC Jean-Manuel (PU-PH)  
CURVALE Georges (PU-PH)  
POITOUT Dominique (PU-PH)  
ROCHWERGER Richard (PU-PH)  
TROPIANO Patrick (PU-PH)

**CHIRURGIE PLASTIQUE,  
RECONSTRUCTRICE ET ESTHETIQUE ; BRÛLOGIE 5004**

BARDOT Jacques (PU-PH)  
CASANOVA Dominique (PU-PH)  
LEGRE Régis (PU-PH)  
MAGALON Guy (PU-PH)

**CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE 5103**

COLLART Frédéric (PU-PH)  
DODDOLI Christophe (PU-PH)  
FUENTES Pierre (PU-PH)  
*GIUDICELLI Roger (PU-PH) en surnombre*  
KREITMANN Bernard (PU-PH)  
METRAS Dominique (PU-PH)  
THOMAS Pascal (PU-PH)

**CHIRURGIE VASCULAIRE ; MEDECINE VASCULAIRE 5104**

ALIMI Yves (PU-PH)  
BRANCHEREAU Alain (PU-PH)  
MAGNAN Pierre-Edouard (PU-PH)  
PIQUET Philippe (PU-PH)

**CYTOLOGIE ET HISTOLOGIE 4202**

GRILLO Jean-Marie (PU-PH)  
  
CHICHEPORTICHE Colette (MCU-PH)  
KOPP Francis (MCU-PH)  
LEPIDI Hubert (MCU-PH)  
PAULMYER/LACROIX Odile (MCU-PH)  
  
MERCIER Georges (MCU)

**DERMATOLOGIE - VENEREOLOGIE 5003**

BERBIS Philippe (PU-PH)  
*BONERANDI Jean-Jacques (PU-PH) en surnombre*  
GROB Jean-Jacques (PU-PH)  
RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth (PU-PH)

**ENDOCRINOLOGIE ,DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES ;  
GYNECOLOGIE MEDICALE 5404**

BRUE Thierry (PU-PH)  
CONTE-DEVOLX Bernard (PU-PH)  
NICCOLI/SIRE Patricia (PU-PH)

**EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE ET PREVENTION 4601**

AUQUIER Pascal (PU-PH)  
CHABOT Jean-Michel (PU-PH)  
SAMBUC Roland (PU-PH)  
*SAN MARCO Jean-Louis (PU-PH) en surnombre*  
THIRION Xavier (PU-PH)

*BALIQUE Hubert (MCU-PH) (détachement)*  
GENTILE Stéphanie (MCU-PH)  
LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude (MCU-PH)

MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte (MCU)(06ème section)  
TANTI-HARDOUIN Nicolas (PRAG)

**GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE ; ADDICTOLOGIE 5201**

BARTHET Marc (PU-PH)  
BERNARD Jean-Paul (PU-PH)  
BOTTA/FRIDLUND Danielle (PU-PH)  
GRIMAUD Jean-Charles (PU-PH)  
LAUGIER René (PU-PH)  
SAHEL José (PU-PH)  
SEITZ Jean-François (PU-PH)

GEROLAMI-SANTANDREA René (MCU-PH)

**GENETIQUE 4704**

LEVY Nicolas (PU-PH)  
MATTEI Jean-François (PU-PH)  
MONCLA Anne (PU-PH)  
SARLES/PHILIP Nicole (PU-PH)

BERNARD Rafaëlle (MCU-PH)  
TOGA/PIQUET Caroline (MCU-PH)  
ZATTARA/CANNONI Hélène (MCU-PH)

LE COZ Pierre (MCU)  
NAVARRO André (MCU)

ALTAVILLA Annagrazia (MCF Associé à mi-temps)

**GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5403**

*BLANC Bernard (PU-PH) en surnombre*

BOUBLI Léon (PU-PH)  
BRETTELLE Florence (PU-PH)  
CRAVELLO Ludovic (PU-PH)  
D'ERCOLE Claude (PU-PH)  
GAMERRE Marc (PU-PH)

**HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION 4701**

BLAISE Didier (PU-PH)  
COSTELLO Régis (PU-PH)  
GASTAUT Albert (PU-PH)  
GILBERT/ALESSI Marie-Christine (PU-PH)  
SEBAHOUN Gérard (PU-PH)  
VAGUE/JUHAN Irène (PU-PH)

CALAS/AILLAUD Marie-Françoise (MCU-PH)  
CHIARONI Jacques (MCU-PH)  
FRERE Corinne (MCU-PH)  
LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina (MCU-PH)  
MARCANTELLI/SAINTY Danielle (MCU-PH)  
MORANGE Pierre-Emmanuel (MCU-PH)  
MOHTY Mohamad (MCU-PH)

**IMMUNOLOGIE 4703**

BONGRAND Pierre (PU-PH)  
KAPLANSKI Gilles (PU-PH)  
MEGE Jean-Louis (PU-PH)  
OLIVE Daniel (PU-PH)  
VIVIER Eric (PU-PH)

FERON François (PU) (69ème section)

BOUCRAUT Joseph (MCU-PH)  
DEGEORGES/MITTE Joëlle (MCU-PH)  
DESPLAT/JEGO Sophie (MCU-PH)  
*MARIN Valérie (MCU-PH) (disponibilité)*  
POMMIER Gilbert (MCU-PH)

BERAUD/JUVEN Evelyne (MCU)  
BOUCAULT/GARROUSTE Françoise (MCU)

**MALADIES INFECTIEUSES ; MALADIES TROPICALES 4503**

BROUQUI Philippe (PU-PH)  
DELMONT Jean (PU-PH)  
STEIN Andréas (PU-PH)  
  
PAROLA Philippe (MCU-PH)

**MEDECINE INTERNE ; GERIATRIE ET BIOLOGIE DU  
VIEILLISSEMENT ; MEDECINE GENERALE ; ADDICTOLOGIE 5301**

DISDIER Patrick (PU-PH)  
DURAND Jean-Marc (PU-PH)  
FRANCES Yves (PU-PH)  
GRANEL/REY Brigitte (PU-PH)  
HARLE Jean-Robert (PU-PH)  
HEIM Marc (PU-PH)  
SOUBEYRAND Jacques (PU-PH)  
WEILLER Pierre-Jean (PU-PH)

BOURGEOIS Michel (PU associé Méd. Gén. à mi-temps)

FILIPPI Simon (MCU associé Méd. Gén. à mi-temps)  
GILLE Alain (MCU associé Méd. Gén. à mi-temps)  
LAURENT/MONTERO Françoise (MCU associé Méd. Gén. à mi-temps)

**MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE 4601**

LEONETTI Georges (PU-PH)

BARTOLI Christophe (MCU-PH)  
PELISSIER/ALICOT Anne-Laure (MCU-PH)  
PIERCECCHI/MARTI Marie-Dominique (MCU-PH)

GIOCANTI Dominique (MCU) "Droit privé et sciences criminelles"

**MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION 4905**

DELARQUE Alain (PU-PH)  
SCHIANO DE TAGLIACUOLLO Alain (PU-PH)  
VITON Jean-Michel (PU-PH)

**MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL 4602**

BOTTA Alain (PU-PH)

BERGE-LEFRANC Jean-Louis (MCU-PH)  
LEHUCHER/MICHEL Marie-Pascale (MCU-PH)  
SARI/MINODIER Irène (MCU-PH)

**NEPHROLOGIE 5203**

BERLAND Yvon (PU-PH)  
BRUNET Philippe (PU-PH)  
DUSSOL Bertrand (PU-PH)  
TSIMARATOS Michel (PU-PH)

**NEUROCHIRURGIE 4902**

*ALLIEZ Bernard (PU-PH) en surnombre*  
DUFOUR Henry (PU-PH)  
*GRISOLI François (PU-PH) en surnombre*  
PERAGUT Jean-Claude (PU-PH)  
REGIS Jean (PU-PH)  
ROCHE Pierre-Hugues (PU-PH)

METELLUS Philippe (MCU-PH)

## NEUROLOGIE 4901

ALI CHERIF André (PU-PH)  
 AZULAY Jean-Philippe (PU-PH)  
 CECCALDI Mathieu (PU-PH)  
 FELICIAN Olivier (PU-PH)  
 GASTAUT Jean-Louis (PU-PH)  
 NICOLI François (PU-PH)  
 PELLETIER Jean (PU-PH)  
*PONCET Michel (PU-PH) en surnombre*  
 POUGET Jean (PU-PH)

## PEDIATRIE 5401

BERNARD Jean-Louis (PU-PH)  
 CHAMBOST Hervé (PU-PH)  
 DUBUS Jean-Christophe (PU-PH)  
 GARNIER Jean-Marc (PU-PH)  
 GIRAUD/CHABROL Brigitte (PU-PH)  
 MALLAN/MANCINI Josette (PU-PH)  
 MICHEL Gérard (PU-PH)  
 SARLES Jacques (PU-PH)  
 SIMEONI Umberto (PU-PH)

## NUTRITION 4404

RACCAH Denis (PU-PH)  
 VIALETTES Bernard (PU-PH)

*ATLAN Catherine (MCU-PH) (disponibilité)*

COZE Carole (MCU-PH)

## PEDOPSYCHIATRIE 4904

POINSO François (PU-PH)  
 RUFO Marcel (PU-PH)

## ONCOLOGIE 65 (BIOLOGIE CELLULAIRE)

CHABANNON Christian (PU)  
 SOBOL Hagay (PU)

## PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE - PHARMACOLOGIE CLINIQUE 4803

BLIN Olivier (PU-PH)  
 BRUGUEROLLE Bernard (PU-PH)  
 FAUGERE Gérard (PU-PH)

## OPHTALMOLOGIE 5502

CONRATH John (PU-PH)  
 DENIS Danièle (PU-PH)  
 RIDINGS Bernard (PU-PH)

MICALLEF/ROLL Joëlle (MCU-PH)  
 SIMON Nicolas (MCU-PH)  
 VALLI Marc (MCU-PH)

## OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE 5501

DESSI Patrick (PU-PH)  
 GIOVANNI Antoine (PU-PH)  
 LAVIEILLE Jean-Pierre (PU-PH)  
 MAGNAN Jacques (PU-PH)  
 THOMASSIN Jean-Marc (PU-PH)  
 TRIGLIA Jean-Michel (PU-PH)  
 ZANARET Michel (PU-PH)

## PHYSIOLOGIE 4402

CHAUVEL Patrick (PU-PH)  
 JAMMES Yves (PU-PH)  
 JOLIVET/BADIER Monique (PU-PH)  
 MEYER/DUTOUR Anne (PU-PH)  
 OLIVER Charles (PU-PH) en surnombre

## PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE 4502

DESSEIN Alain (PU-PH)  
 DUMON Henri (PU-PH)

FARAUT Françoise (MCU-PH)  
 FAUGERE Bernard (MCU-PH)  
 FOBY/FANCK Jacqueline (MCU-PH)  
 MARY Charles (MCU-PH)  
 RANQUE Stéphane (MCU-PH)  
 TOGA/ZAMMIT Isabelle (MCU-PH)

BARTHELEMY Pierre (MCU-PH)  
 BARTOLOMEI Fabrice (MCU-PH)  
 BLANQUET France (MCU-PH)  
 BLONDAUX/GUILLOT Chantal (MCU-PH)  
 BOULLU/CIOCCA Sandrine (MCU-PH)  
 BREGEON Fabienne (MCU-PH)  
 DADOUN Frédéric (MCU-PH)  
 DEL VOLGO/GORI Marie-José (MCU-PH)  
 DELPIERRE Stéphane (MCU-PH)  
 FARNARIER Guy (MCU-PH)  
 GAVARET Martine (MCU-PH)  
 PEYROT Jacques (MCU-PH)  
 PLANCHE Denis (MCU-PH)  
 REY Marc (MCU-PH)

BESSONE Richard (MCU) (66ème section)  
 GUILLAUME Viviane (MCU)(40ème section)  
 JORAND/NOEL Marie-Christine (MCU)(40ème) (retraite au 31/12/07)  
 LIMERAT/BOUDOURESQUE Françoise (MCU)(40ème section)  
 STEINBERG Jean-Guillaume (MCU)(66ème section)  
 THIRION Sylvie (MCU) (66ème section)

**PNEUMOLOGIE 5101**

ASTOUL Philippe (PU-PH)  
CHARPIN Denis (PU-PH)  
OREHEK Jean (PU-PH)  
REYNAUD/GAUBERT Martine (PU-PH)  
VERVLOET Daniel (PU-PH)

BARLESI Fabrice (MCU-PH)

**PSYCHIATRIE D'ADULTES 4903**

AZORIN Jean-Michel (PU-PH)  
BAILLY Daniel (PU-PH)  
LANCON Christophe (PU-PH)  
NAUDIN Jean (PU-PH)

**RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE 4302**

*AGOSTINI Serge (PU-PH) (disponibilité)*  
BARTOLI Jean-Michel (PU-PH)  
CHAGNAUD Christophe (PU-PH)  
DEVRED Philippe (PU-PH)  
GIRARD Nadine (PU-PH)  
LEVRIER Olivier (PU-PH)  
MOULIN Guy (PU-PH)  
PANUEL Michel (PU-PH)  
PETIT Philippe (PU-PH)

**REANIMATION MEDICALE ; MED URGENCE 4802**

GAINNIER Marc (PU-PH)  
GERBEAUX Patrick (PU-PH)  
PAPAZIAN Laurent (PU-PH)  
SAINTY Jean-Marie (PU-PH)

**RHUMATOLOGIE 5001**

LAFFORGUE Pierre (PU-PH)  
ROUDIER Jean (PU-PH)

GUIS Sandrine (MCU-PH)

**THERAPEUTIQUE 4804**

AMBROSI Pierre (PU-PH)  
BANDINI/MOULY Annick (MCU-PH)  
BARTOLIN Robert (PU-PH)  
BOUVENOT Gilles (PU-PH)  
VILLANI Patrick (PU-PH)

**UROLOGIE 5204**

BLADOU Franck (PU-PH)  
COULANGE Christian (PU-PH)  
LECHEVALLIER Eric (PU-PH)  
ROSSI Dominique (PU-PH)  
SERMENT Gérard (PU-PH)

BASTIDE Cyrille (MCU-PH)



# REMERCIEMENTS

## **Au membres du jury,**

Monsieur Jean DELMONT, Professeur en infectiologie, Hôpital Nord

*Votre approche anthropologique, géopolitique et géoclimatique de la médecine tropicale m'aura ouvert l'esprit. Votre gentillesse, votre disponibilité et votre humilité resteront pour moi un exemple à suivre faisant honneur à votre fonction et à l'institution universitaire. Et votre estime à mon égard, un soutien très précieux. Merci de m'avoir ouvert la porte des Comores, d'avoir corrigé ce travail et d'avoir accepté d'en présider le jury.*

Renaud PIARROUX, Professeur de parasitologie-mycologie, Timone

*Je suis parti pour le baignage quand vous rentriez du goulag ! Vous en avez rapporté une gentillesse, une liberté de pensée, une richesse d'esprit et des champs d'intérêt scientifique séduisants et profitables à vos étudiants et collaborateurs présents et futurs. Vos travaux en Afrique illustrent la possibilité d'une synthèse entre des domaines qui me passionnent : la médecine, le développement et la recherche. Je regrette beaucoup de n'avoir eu le temps ni l'opportunité d'apprendre plus à vos côtés. Merci d'avoir accepté de juger ce travail.*

Christophe ROGIER, Professeur de médecine agrégé du Val de Grâce, Directeur de l'Unité de Recherche en Biologie et Epidémiologie Parasitaire, le Pharo, Marseille,

*En acceptant de prendre en stage ce nouveau "clinicien" dans ton laboratoire, tu ne te doutais sûrement pas qu'en plus de le transformer en apprenti paludologue et généticien des populations passionné, tu mettrais à mal son antimilitarisme primaire ! Mon passage dans tes murs aura été aussi enrichissant qu'éprouvant et je te remercie de m'avoir offert de travailler sur un sujet aussi transversal, théorique et pratique à la fois. Merci de m'avoir permis de profiter un peu de ton génie pour l'épidémiologique. Merci de l'enthousiasme, de la pédagogie et de la spontanéité que tu m'as témoignés. Merci enfin d'avoir accepté de juger ce travail.*

Stéphane RANQUE, Maître de conférence en parasitologie-mycologie, Timone

*Par ton parcours original, tu me fait l'effet d'un rameur traversant avec humilité, sang froid et détermination les eaux agitées de la Méditerranée. "Paludologue" de naissance "tâtant" également les microsats avec les champignons, il était naturel que tu juges ce travail. Merci d'avoir accepté avec tant d'enthousiasme.*

## **Aux co-artisans de cette thèse,**

Hervé BOGREAUX, chercheur à l'Unité de Recherche en Biologie et Epidémiologie Parasitaire, le Pharo, Marseille,

*Sorte de "chercheur fou" au look inégalable et à l'esprit imaginatif acharné et terriblement rigoureux (parfois même tatillon!), tu m'as offert outre ton amitié tes after-eight tes fous rires et tes soirées au labo, ton savoir, avec une incommensurable patience dont tu es seul capable. Ce travail est en réalité le tiens. Merci à toi l'ami. Merci.*

Philippe PAROLA, Maître de conférence en infectiologie, Hôpital Nord

*Après avoir défriché le terrain, tu m'as mis le pied à l'étrier, stimulé, coaché, quelque peu soutenu... Tu m'as aussi guidé vers ce travail, qui t'est donc logiquement dédié. J'aurais aimé que tu puisses le juger. Merci pour tout ce que tu as fait.*

Rahamatou SILAÏ, technicienne responsable au PNLP des Comores,  
*Ma chère "mama" des Comores, merci d'avoir récupéré avec une telle diligence les échantillons de tes îles. Merci de m'avoir accompagné aux quatre coins de Moroni, malgré la pénurie d'essence, le soleil accablant et en plein Ramadan ! Merci pour ton accueil et ta si bonne humeur.*

Jean-François LEPERE, médecin du dispensaire de Bandraboua, Mayotte,  
*Merci pour la mise à disposition de vos échantillons et les précieuses informations que vous m'avez communiquées. Je regrette de n'avoir toujours pas pu échanger avec vous de vive voix.*

A tous les collaborateurs du Pharo : Agnès, Aurélie, Nico, Carole, Chloé, Housseem, Julien, Lionel, Stéphane et les autres...,  
*merci pour votre bonne humeur, vos coups de pipette, vos conseils, et votre tolérance envers mes horaires sérés et mes oublis...*

A tous les collaborateurs rencontrés en Union des Comores, au Ministère, au PNLP, à la PNAC, à Anjouan, dans les pharmacies, les compagnies aériennes, les aéroports, les ports et les plages...,  
*Merci pour votre gentillesse et votre disponibilité.*

Je remercie aussi les départements Santé et Coopération Internationale du Conseil Général des Bouches-du-Rhône et leurs responsables, le PHRC régional, le Ministère de la Santé via le CNR – paludisme, le Ministère de la Défense via l'Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées, sans le financement desquels cette étude n'aurait été possible.

A ces chefs et ces professeurs, dont j'ai tant apprécié le compagnonnage,  
Marc BARTHET  
Philippe BROUQUI  
Félix DJOSSOU  
Jean-Marc DURAND  
Cédric FOUCAULT  
Pierre-Edouard FOURNIER  
Fabrice SIMON  
Véronique VITTON

A ceux de mes professeurs, qui outre la médecine, m'auront beaucoup appris sur la nature humaine et le système universitaire...

Au Professeur VITTECOQ qui m'offre sa confiance, un travail et la possibilité de poursuivre ma formation. A son équipe qui s'apprête à m'accueillir.

## **A ma famille, à mes amis,**

A mes très chers parents, faces opposées d'une même pièce, qui m'ont offert amour, cadre et éducation de rêve.

*Merci tout simplement d'être là, comme vous êtes.*

A mes très chers frères,

*Brice, tu regrettes comme moi de ne pouvoir assister à ce rituel de passage. De ton île lointaine et dont le nom remplit pourtant ces pages, tu me souffles un vent de courage aux saveurs exotiques. C'est toi qui a raison !*

*Côme, je te souhaite d'avoir un jour le bonheur de faire le même genre de travail mais avec des oiseaux !*

A Mik, cousin et grand frère.

Aux autres cous' : Hannelore et la puce, Mag, Cyril, Aurélie, Thib, Amarylis...

Aux tontons et tatas : Loumi, Marie, Hubert, Didier...

A mes grands-parents

A Farès, mon ami, mon frère.

A mes amis amoureux de la mer : Alexandro, Baptiste, David, Djamel, Flo, Louis, Oliv', Vincent, et les autres. A l'Amiral Franco.

Aux grimpeurs Alex, Arthur, Olivier...

Aux autres Marseillais : Aissata, Astrid et maintenant Joachim, Carmina, Caro Guillaume et Emile, Jeff et Anne, Kleber, Kodou Xavier et Kia, Le Mich Auré et les petits, Marie, Marielle, Pascale...

Aux Lyonnais : Julien et Julie, Gaël, Miles, Nico et Nico, Tib', Arnaud...

Aux Drômois : Thomas and co, Teyssou, Mouf, LNA et sa famille, Sylvain, Guillaume et les autres...

Aux amis du "plateau" : Jo' et Ema, Sam' et Cha

A ceux, soignants ou docteurs, avec qui j'ai eu la chance de travailler... ou pas d'ailleurs : Barbara, Cédric, Céline, Clarisse, Christine et son équipe de choc, Djamel, Emilie, Fanny, Hélène, Hervé TD, Jean-christophe, Johana, Julie, Kramy, PEF, Piseth, Pitchoune, Séverine, Sophie, Stéphanie, Véro, Vincent, et tous les autres... : *vous me manquerez soyez en sûr...*

Aux Guyanais : Aba, Abboud, Amandine, Amparo, Antoine, Carole, Claire, Dave and Babe, Denis, Fred, Maïté "tchikita", Magalie, Raymonde, Richard Cœur de Lion, Tibo et Emilie, Yves, Sam "Batard"...

Aux Congolais : Fred, Céline, Ulf, Marie, Jean-Pierre, Mimi, Roger, Yann, Pascal, Mélody, Marie, Toris, Jeff...

A ceux, anciens, lointains, plus ou moins perdus de vue parfois, que j'ai eu la chance immense de croiser sur la route : Emi, Cristina, Bevan, Aihnoa, Benjamin, Laetitia, Tsengel, Benoit, Lars, Jacob, Sophie...

A tous les oubliés...

**A Marseille...**

**A la mer...**

# SOMMAIRE

Sommaire .....	1
1 Introduction générale .....	4
2 Le contexte .....	8
2.1 Les Comores et les Comoriens .....	8
2.1.1 Géographie physique et climatique.....	8
2.1.2 Une brève histoire des Comores .....	9
2.1.3 Démographie générale, l’immigration à Mayotte, les Comoriens de Marseille..	10
2.1.4 Une situation économique et sanitaire difficile en Union des Comores .....	12
2.2 Histoire et origine du paludisme aux Comores.....	13
2.3 Quelques rappels utiles de paludologie.....	16
2.3.1 Généralités – le poids de la pandémie.....	16
2.3.2 Notions de biologie parasitaire et vectorielle .....	17
2.3.3 Eléments d'épidémiologie du paludisme à <i>Plasmodium falciparum</i> .....	19
Mesure, déterminants et classification de la transmission du parasite .....	19
Indicateurs et classification de l'endémie palustre .....	20
Faciès épidémiologiques.....	22
Épidémies.....	23
2.3.4 Le développement de la chimiorésistance de <i>P. falciparum</i> .....	23
Les antipaludiques.....	23
Le poids de la chimiorésistance de <i>Plasmodium falciparum</i> .....	24
Les méthodes de surveillance de la chimiorésistance .....	25
2.3.5 Diversité génétique de <i>P. falciparum</i> et principes d'épidémiologie moléculaire et de génétique des populations appliqués au paludisme.....	27
3 Épidémiologie descriptive du paludisme aux comores.....	29
3.1 Introduction .....	29
3.2 Matériels et méthodes.....	30
3.2.1 Sources : .....	30
3.2.2 Nature des données recensées.....	31
3.3 Données entomologiques : vecteurs, gîtes et niveaux de transmission.....	31
3.4 incidence et morbidité du paludisme.....	33
3.5 Prévalence et niveaux d'endémicité .....	36
3.6 Chimiorésistance de <i>Plasmodium falciparum</i> .....	40

3.7 Conclusion : Vers une nouvelle épidémiologie du paludisme aux comores ? .....	42
4 Étude de la diversité génétique et de la structuration des populations de <i>Plasmodium falciparum</i> dans l'archipel des Comores .....	44
4.1 Introduction et rappels.....	44
4.2 Matériels et méthodes.....	46
4.2.1 Echantillons de <i>Plasmodium falciparum</i> .....	46
4.2.2 Recueil d'informations épidémiologiques .....	47
4.2.3 Procédures de géotypage .....	48
Extraction de l'ADN .....	48
Marqueurs moléculaires.....	49
Géotypage des microsatellites par polymérase chain réaction (PCR).....	49
Géotypage de Pfcrt .....	50
Géotypage de Pfdhps et de Pfdhfr .....	50
4.2.4 Analyses statistiques .....	51
Multiplicité des populations de <i>P. falciparum</i> .....	51
Diversité génétique .....	51
Dérive génétique et bottleneck récent .....	52
Structuration génétique des populations.....	52
Assignement.....	53
Déséquilibre de liaison .....	53
Fréquence des mutations associées à la chimiorésistance .....	53
Mesure des corrélations entre Fst et indicateurs épidémiologiques.....	53
4.3 Résultats .....	55
4.3.1 Multiplicité moyenne .....	55
4.3.2 Diversité génétique .....	56
4.3.3 Dérive génétique et <i>bottleneck</i> .....	57
4.3.4 Différenciation génétique entre les îles et structuration.....	57
4.3.5 Assignement .....	58
4.3.6 Déséquilibre de liaison.....	58
4.3.7 Fréquence des mutations ponctuelles associées à la chimiorésistance .....	58
4.3.8 Corrélations entre Fst et indicateurs épidémiologiques .....	59
4.3.9 Association entre pression médicamenteuse et fréquence des résistances.....	60
4.4 Discussion.....	61
4.4.1 Hétérogénéité des populations plasmodiales de l'archipel des Comores .....	61

4.4.2 Situation épidémiologique particulière à Mayotte.....	62
4.4.3 Faible représentativité de la population plasmodiale échantillonnée à Marseille .....	65
4.4.4 Niveaux contrastés de chimiorésistance entre les îles mal expliqués par la structuration des populations.....	66
4.5 Conclusion : applications de ces données pour la lutte antipaludique et perspectives .	68
5 Conclusion générale et perspectives .....	70
Bibliographie.....	72
Annexes .....	81

# 1 INTRODUCTION GENERALE

*Plasmodium falciparum* constitue le principal agent responsable du paludisme dans le monde. Et parmi les 250 millions de cas annuels, on estime à environ un million le nombre de décès, principalement en Afrique Sub-Saharienne (World Health Organization 2008), ce qui fait de ce parasite une véritable arme de destruction massive. Sur l'Archipel des Comores, 4 îles situées dans l'Océan Indien entre Madagascar et les côtes africaines et dont la population globale est de l'ordre de 800 000 habitants (United Nation Population Division 2007) (Fig. 1), le paludisme à *P. falciparum* représente ainsi un des principaux problèmes de santé publique. En effet, tandis que les autorités sanitaires françaises ont échoué à éradiquer la maladie sur l'île de Mayotte (MAY), l'incidence du paludisme resterait d'environ 100 cas pour 1000 habitants et par année en Union des Comores (îles de la Grande Comore (GC), Anjouan (ANJ) et Mohéli (MOH)) (voir Partie 3).

Cet échec découle du fait qu'à l'instar de la plupart des pays endémiques, les efforts de lutte anti-paludique aux Comores ont été mis à mal par l'expansion sur l'archipel de souches de *P. falciparum* résistantes aux anti-paludiques efficaces et bons marché comme la chloroquine et le Fansidar<sup>®</sup> (pyriméthamine-sulfadoxine). Ces souches parasitaires chloroquinorésistantes y seraient notamment arrivées au début des années 1980, avant d'être rapidement sélectionnées par un usage massif et inapproprié de ce médicament (voir Partie 3.6) (Eichenlaub et Pohle 1980; Le Bras *et al.* 1987). Ces dernières années, les autorités sanitaires comorienne et française ont ainsi dû se résoudre à recommander et adopter les ACT (*artemisin-combined therapy*), combinaisons antipaludiques très efficaces mais plus onéreuses, à base de dérivés d'artémisinine, molécule isolée de l'armoise chinoise (Programme National de Lutte contre le Paludisme 2007; Quatresous *et al.* 2007).

Afin de retarder aussi longtemps que possible le développement et l'expansion sur l'archipel des Comores de la résistance aux ACT, la surveillance de la sensibilité de *P. falciparum* aux antipaludiques doit y être optimale. Or, il n'existe aucune revue de la littérature récente sur le sujet, la surveillance des résistances semble avoir été irrégulière et inégale entre les différentes îles comoriennes, et les quelques essais thérapeutiques d'efficacité et études de sensibilités *in vitro* et moléculaires disponibles semblent avoir fourni des résultats assez discordants comme nous le verrons dans la Partie 3 (Eichenlaub et Pohle 1980; Le Bras *et al.* 1987; Blanchy et Benthein 1989; Julvez et Galtier 1989; Rabenjarson *et al.* 1992; Feillet *et al.* 1993; Ariey *et al.* 2002; Randrianarivelosia *et al.* 2004; Tall *et al.*

2004; Quatresous *et al.* 2005; World Health Organization 2005; Silai *et al.* 2007; Tall *et al.* 2007).

Par ailleurs, Marseille héberge une importante communauté comorienne, estimée à plus de 50000 personnes, source de la plupart des cas de paludisme d'importation accueillis dans les hôpitaux de la ville (Parola, Minodier *et al.* 2005; Ali Mohamed 2007). A partir de l'étude systématique des souches parasitaires importées à Marseille par le Centre National de Référence pour le Paludisme du Pharo, la Cité phocéenne a ainsi récemment été proposée comme un site sentinelle pertinent pour la surveillance du paludisme comorien (Parola *et al.* 2004; Parola *et al.* 2007). Néanmoins, l'extrapolation de ces données à l'ensemble de l'archipel pourrait être hasardeuse et n'a en tout cas jamais fait l'objet d'une étude adaptée.

Enfin, un programme d'élimination du paludisme a été instauré fin 2007 – début 2008 sur la seule île de Mohéli, sous la direction d'une équipe universitaire et industrielle chinoise. La population de l'île ainsi que les personnes s'y rendant ont été soumises à un traitement de masse par l'ACT artémisinine-pipéraquline (Artequick<sup>®</sup>, Artepharm Co., Chine) puis primaquine, sans lutte antivectorielle associée, et dans un climat d'importantes polémiques et rumeurs en Union des Comores. En raison des voyages incessants qu'effectuent les Comoriens entre les différentes îles, on serait effectivement en droit de s'interroger de l'efficacité à long terme d'une tentative aussi isolée.

En effet, plusieurs études d'épidémiologie moléculaire ont maintenant montré que les populations de *Plasmodium falciparum* sont plus ou moins homogènes au sein des zones d'endémie et peuvent ainsi présenter des structurations liées à l'isolement géographique et à des différences de taux de transmission comme nous le verrons dans la Partie 4 (Anderson *et al.* 2000; Bogreau *et al.* 2006). Mais bien que l'isolement géographique des parasites pourrait être plus important dans les îles qu'au sein des continents, l'importance de la structuration génétique des populations de *P. falciparum* sur un archipel comme celui des Comores demeure complètement inconnue. Ces données seraient pourtant d'une importance majeure pour interpréter et extrapoler les résultats de chimiorésistance du *P. falciparum* obtenus aux Comores ou à Marseille, ajuster les politiques de surveillance et de traitement de la maladie, et guider d'éventuels programmes d'élimination du paludisme sur l'archipel ou prédire les chances de succès du programme mis en place en 2008 à Mohéli.

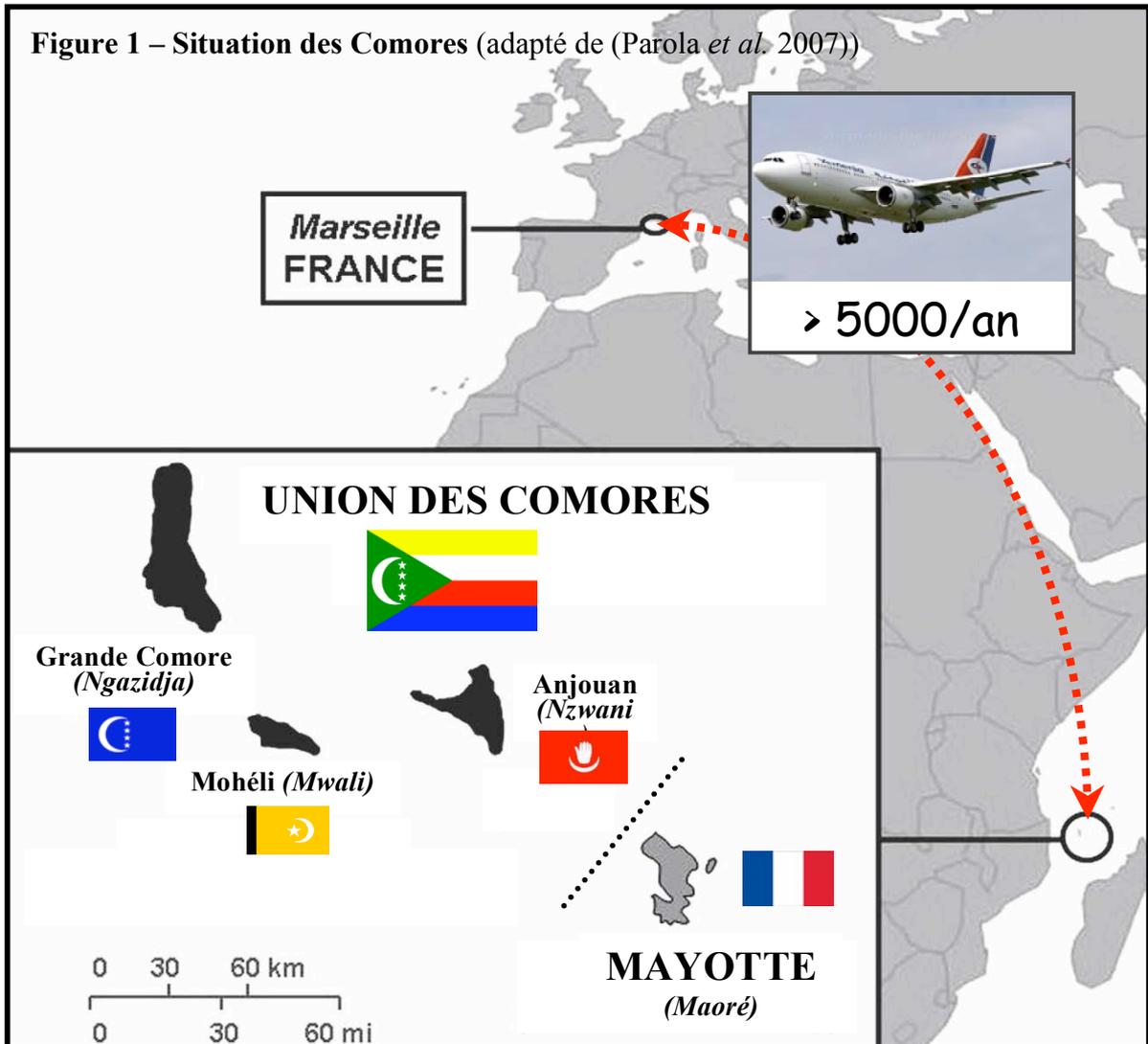
Le présent travail présente donc, après les nécessaires rappels sur le contexte (Partie 2) :

- En Partie 3 : une synthèse des données relatives à l'épidémiologie descriptive du paludisme aux Comores (données entomologiques et de transmission, nombre de cas et incidence, prévalence, chimiorésistance du *Plasmodium falciparum*). L'objectif de cette synthèse est de tenter de dresser un bilan des connaissances concernant l'épidémiologie du paludisme sur l'archipel et d'en envisager les applications et les limites. Nous verrons que ces données demeurent parcellaires, parfois même contradictoires, et par conséquent d'interprétation difficile et d'utilisation délicate pour une lutte antipaludique optimale. Les perspectives que pourraient offrir les nouvelles méthodes d'épidémiologie moléculaire et de génétique des populations en sont d'autant plus intéressantes. Cette revue devrait faire l'objet d'un article prochainement soumis pour publication dans une revue francophone.
- En Partie 4 : une étude d'épidémiologie moléculaire et de génétique des populations de *Plasmodium falciparum* de chacune des îles des Comores en 2007. L'objectif principal de ce travail est d'étudier au moyen de marqueurs génétiques sélectivement neutres (c'est à dire non soumis à pression de sélection, ici des microsatellites) et de marqueurs génétiques de résistance (à la chloroquine, à la pyriméthamine et à la sulfadoxine), la structuration de la population de parasites de l'archipel et de déterminer si elle est homogène ou hétérogène. Ce travail de génétique parasitaire a été réalisée courant 2008 au laboratoire du l'IMTSSA (Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées) au Pharo sous la direction de Christophe Rogier et de Philippe Parola et à partir d'isolats prélevés en 2007 par le PNLP Comores et le centre de santé de Bandraboua à Mayotte. Il a été complété en septembre 2008 par une enquête de terrain menée en Union des Comores visant à récolter autant d'informations que possible d'une part sur l'intensité des flux de populations humaines entre les îles de l'archipel des Comores et d'autre part sur la consommation en anti-paludiques. L'objectif était de tenter d'établir des corrélations avec respectivement la structuration génétique mise en évidence et les niveaux de chimiorésistance, et ainsi de consolider et d'interpréter plus finement ces résultats. En effet, la structuration des populations de *P. falciparum* entre les îles dépend théoriquement de l'intensité de leurs échanges en parasites, qui s'effectuent par le biais des flux de population humaine (Bogreau *et al.* 2006). Il est par ailleurs clairement établi que le niveau de chimiorésistance dépend étroitement du niveau de pression médicamenteuse exercée sur la population parasitaire, c'est à dire de l'importance de la consommation en anti-paludiques. Nous verrons que ces résultats de génétique ont des implications

intéressantes dans l'organisation de la lutte contre la chimiorésistance et apportent des éléments de réflexion pertinents à propos de l'essai "chinois" d'élimination du paludisme sur Mohéli, et de la situation du paludisme sur l'île de Mayotte. Le second objectif de l'étude est d'analyser au moyen de ces mêmes marqueurs si la diversité génétique des souches de *P. falciparum* importées à Marseille est représentative de la diversité globale retrouvée aux Comores. Là encore, cette approche génétique permet de beaucoup mieux apprécier la place de Marseille comme site sentinelle potentiel pour la surveillance du paludisme comorien.

Ce travail et ses implications pour la lutte anti-paludique ont été exposés aux partenaires comoriens sur place en septembre 2008 et font l'objet d'un article en cours de rédaction pour publication dans une revue internationale.

Figure 1 – Situation des Comores (adapté de (Parola *et al.* 2007))



## 2 LE CONTEXTE

### 2.1 LES COMORES ET LES COMORIENS

#### 2.1.1 Géographie physique et climatique

L'archipel des Comores, situé dans l'Océan Indien entre Madagascar et les côtes africaines, entre 11° et 13° Sud et entre 42° et 45° Est, se compose de 4 îles (Fig. 1) : Grande Comore (GC, *Ngazidja*), Anjouan (ANJ, *Ndzouani*), Mohéli (MOH, *Mwali*) et Mayotte (MAY, *Maoré*), elle-même constituée de 2 îles principales, Grande-Terre et Petite-Terre. L'ensemble de ces terres représente une superficie de 2.233 km<sup>2</sup>. Les 3 premières îles forment actuellement, en dépit des soubresauts autonomistes internes récurrents, l'état de l'Union des Comores. Mayotte est, en dépit du droit international, restée sous administration française après la décolonisation et vient de voter son évolution statutaire en département d'Outre-Mer.

D'origine volcanique et émergées à des époques successives, ces îles présentent des reliefs et des sols différents plus ou moins transformés. Le climat est tropical maritime, caractérisé par de faibles variations annuelles de température (autour de 26°C au niveau de la mer) et par des précipitations abondantes (2679 mm par an en moyenne), définissant 2 saisons, l'une chaude et humide (novembre-avril), l'autre sèche (mai-octobre). De fortes variations climatiques sont néanmoins observées en fonction de l'altitude, du relief et de l'exposition par rapport aux vents dominants (côtes Ouest au-vent et Est sous-le-vent). Les précipitations annuelles varient ainsi de 1000 à 6000 mm selon les endroits, et des minima à 0°C sont enregistrés au sommet du Mont Karthala (2360 m, Grande Comore) (Wikipedia - L'Encyclopédie Libre 2009).

L'île de Mayotte, âgée et érodée, et dont les sols se sont peu à peu imperméabilisés, présente de nombreux bassins versants et retenues d'eau propices au développement des vecteurs du paludisme. Mohéli forme un plateau bordé de plaines côtières, où des estuaires et de nombreux ruisseaux bouchés en saison sèche par des cordons de sable délimitent des retenues d'eau plus ou moins polluées. Anjouan présente un réseau hydrographique relativement limité, et les retenues d'eau sont peu nombreuses. Les plaines côtières y sont cependant marécageuses. La Grande Comore, île la plus récente sur plan géologique, est recouverte de laves très poreuses empêchant la constitution d'un réseau hydrographique de surface. Pour palier à ce manque d'eau, un grand nombre de citernes et de bassins d'ablution ont été construits sur cette île par la population (Blanchy *et al.* 1999).

La faune et la flore de l'archipel sont étroitement apparentées à celles de Madagascar, mais l'isolement géographique a permis l'émergence de nombreuses espèces endémiques.

### 2.1.2 Une brève histoire des Comores

Inhabitées jusqu'au V<sup>e</sup> siècle, les 4 îles de l'archipel des Comores ont connu par la suite plusieurs vagues de colonisation très variées. Austronésiens venus d'Asie du Sud-Est puis Bantous d'Afrique de l'Est, Arabes, Persans "chirazi" (XIII<sup>e</sup> siècle) et enfin Malgaches (à l'occasion de razzias au XVIII<sup>e</sup> siècle) ont donné naissance à une population au métissage varié selon les îles (Julvez 1995). Les Comoriens parlent ainsi une langue apparentée au swahili et matinée de nombreux emprunts à l'arabe, le *shikomori*, dont chaque île présente une forme dialectale. Et ils pratiquent très largement un Islam sunnite modéré accommodé de coutumes africaines comme le fameux "grand mariage" (*anda*).

A l'époque où les Européens "découvrirent" l'archipel au XVI<sup>e</sup> siècle et en firent un point de relâche sur la route des Indes puis un dépôt à esclaves, celui-ci était politiquement organisé en plusieurs sultanats dirigés par des familles "nobles" d'origine chirazienne, et tellement rivaux que les Comores étaient connus dans la région comme "l'Archipel des sultans Batailleurs". Mais du fait de son intérêt stratégique, les Comores devinrent progressivement protectorat français au XIX<sup>e</sup> siècle puis colonie française au début du XX<sup>e</sup> siècle. Face aux velléités indépendantistes, un référendum d'autodétermination fut finalement concédé par la France en 1974 et les Comores accédèrent à l'Indépendance en 1975, amputés cependant de l'île de Mayotte dont les habitants, à l'issue d'une campagne contestée, avaient décidé de demeurer français (Michalon 2009). Tandis que le jeune état comorien a depuis fait les frais d'une instabilité politique récurrente, avec nombre coups d'état dont certains directement pilotés par la France et mis en œuvre par le fameux mercenaire Bob Denard, et de velléités sécessionnistes récurrentes de l'île d'Anjouan (Caminade 2003), l'île particulièrement stratégique de Mayotte continue d'être administrée par la France, en violation du droit international et en désaccord avec l'Union des Comores (Caminade 2003). D'un autre côté, abandonner Mayotte serait maintenant une violation anti-constitutionnelle de l'unité du territoire français, et l'île poursuit ainsi progressivement son intégration dans la communauté française (avec le vote pour la départementalisation de mars 2009), creusant ainsi chaque jour un peu plus l'écart de "développement" avec un voisin qui peine à prendre son essor et reste en proie à d'importants défis économiques, sociaux et sanitaires.

**Tableau 1 – Données géographiques et démographiques**

	Union des Comores				France
	Grande Comore (Ngazidja)	Anjouan (Ndzouani)	Mohéli (Mwali)	Mayotte (Maore)	Marseille
<b>Superficie</b>	2236 km <sup>2</sup>				
	1.148 km <sup>2</sup>	424 km <sup>2</sup>	290 km <sup>2</sup>	374 km <sup>2</sup>	
<b>Altitude ≤500m<sup>a</sup></b>	61%	60%	95%	99%	
<b>Population (est. 2005)<sup>b</sup></b>	798.000 hab (est. ONU 2005) <sup>b</sup>				50.000 – 80.000 hab d'origine comorienne
	616.000 (est. ONU 2005) <sup>b</sup> 575.400 (recensement 2003) <sup>c</sup> avec :			160.300 (recensement 2002) <sup>d</sup>	
	296.000 (2003)	243.700 (2003)	35.700 (2003)		
<b>Population (approximation plus récente)<sup>b</sup></b>	Env. 850.000 hab				50.000 – 80.000 hab d'origine comorienne
	Env. 650.000 (est. ONU 2007) <sup>b</sup>			186.500 (recensement 2007) <sup>f</sup>	
	Env. 330.000	Env. 280.000	37.200 (2007) <sup>e</sup>		
<b>Densité (2002-2003)</b>	258 hab/km <sup>2</sup>	575 hab/km <sup>2</sup>	123 hab/km <sup>2</sup>	429 hab/km <sup>2</sup>	
<b>Nombre de villages<sup>a</sup></b>	200	83	26	100	
<b>Villages côtiers<sup>a</sup></b>	70%	51%	80%	80%	

<sup>a</sup> d'après (Blanchy *et al.* 1999). La transmission du paludisme est nulle au dessus de 500-600m en Grande Comore et à Anjouan. Elle est plus importante à proximité des estuaires.

<sup>b</sup> d'après (United Nation Population Division 2007)

<sup>c</sup> d'après (Direction Nationale du Recensement de l'Union des Comores 2005)

<sup>d</sup> d'après (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques - Mayotte *et al.* 2003)

<sup>e</sup> d'après le recensement effectué en 2007 avant le lancement du programme d'élimination du paludisme à Mohéli (données du PNLP des Comores, non publiées)

<sup>f</sup> d'après (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques - Mayotte 2007)

### 2.1.3 Démographie générale, l'immigration à Mayotte, les Comoriens de Marseille

La dernière estimation de la population totale de l'archipel des Comores date de 2005 (Tableau 1) (United Nation Population Division 2007). Basée sur un recensement de 2003 pour l'Union des Comores (Direction Nationale du Recensement de l'Union des Comores 2005) et de 2002 pour Mayotte (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques - Mayotte *et al.* 2003), elle faisait état de près de 800.000 habitants. Son évolution depuis est difficile à préciser. En se basant sur le nouveau recensement de la population uniquement légale effectué en 2007 à Mayotte (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques - Mayotte 2007), sur un recensement effectué en 2007 à Mohéli dans le cadre du projet d'élimination du paludisme (données fournies par le PNLP de l'Union des Comores, non publiées), et sur un taux d'accroissement naturel de 2,5 à 3% en Union des Comores (United Nation Population Division 2007), on peut estimer à près de 850.000 le nombre de Comoriens vivant sur l'archipel (Tableau 1). Cette population est essentiellement jeune (plus de 40% a moins de 15 ans) (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques - Mayotte *et al.* 2003; Direction Nationale du Recensement de l'Union des Comores 2005). La Grande Comore est la plus peuplée des 4 îles et Mohéli la moins peuplée. Anjouan et Mayotte sont les îles dont la population est la plus dense (Tableau 1). Très attachés à leurs communautés communales (les *mdji*) et à leurs îles respectives, les Comoriens présentent souvent un certain ostracisme vis à vis des autres communautés de l'archipel. Ils se déplacent néanmoins facilement entre ces îles séparées de quelques dizaines de kilomètres. De nombreux Anjouanais ont ainsi quitté leur île pour Mohéli ou Mayotte à l'occasion des crises séparatistes qui l'ont secouée ces dernières années (notamment en 2008 avec le Président Bacar), rendant plus difficile encore une bonne estimation des populations respectives de ces îles.

En raison de l'attrait que représente Mayotte (le PIB par habitant y est 10 fois plus élevé), et de la proximité culturelle et même familiale unissant ces îles, entre 10.000 et 20.000 Comoriens y débarqueraient clandestinement chaque année, entassés dans des *kwassa-kwassa*, embarcations de fortune aux moteurs fatigués, tenant mal la mer, et victimes de fréquents accidents meurtriers. Bien qu'environ 20.000 comoriens en situation irrégulière quittent Mayotte tous les ans (mesures "d'éloignement" ou de reconduites à la frontière, et départs "volontaires") (Commission des Lois Constitutionnelles et de la Législation et de l'Administration Générale de la République Française 2006; Secrétariat Général du Comité Interministériel de Contrôle de l'Immigration 2007), l'INSEE estimait ainsi en 2003 à plus de

55.000 le nombre d'étrangers sur le sol mahorais, soit le tiers de la population (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques - Mayotte *et al.* 2003). Selon une récente étude de l'Inserm (Florence *et al.* 2008), 29% de la population serait en effet constituée de migrants (dont 66% nés à Anjouan, 16% en Grande Comore, et 4% à Mohéli) de nationalité étrangère (comorienne pour 97% d'entre eux). Ces migrants seraient installés pour moitié depuis plus de 10 ans et 82% seraient en situation irrégulière. Contrairement à une idée reçue largement répandue, l'immigration pour raison sanitaire apparaît très minoritaire (11%) derrière les raisons économiques et familiales. Et bien que plus de la moitié des femmes accouchant à Mayotte soient de nationalité étrangère, l'immigration pour accouchement semblent très rare. Ainsi, le droit du sol ne s'appliquant pas automatiquement aux enfants nés sur le territoire mahorais, 11% de la population serait constituée d'étrangers nés à Mayotte (Florence *et al.* 2008). Toujours selon cette enquête, 20% de la population étrangère en situation irrégulière âgée de plus de 14 ans aurait déjà été reconduite "à la frontière", c'est à dire sur Anjouan, dont 40% plus d'une fois, ce qui semble inférieur aux données de la préfecture. Il s'agit pour la plupart d'hommes de moins de 30 ans, vivant en couple et exerçant une activité informelle (Florence *et al.* 2008).

Une importante diaspora s'est également constituée dans l'Océan Indien et vers la France ces dernières décennies, notamment en réaction aux difficultés économiques que connaît l'Union des Comores. On dénombre ainsi 40.000 Comoriens sur l'île de la Réunion et ils seraient 150 à 200.000 en France métropolitaine selon le Ministère des Affaires Etrangères (Ministère Français des Affaires Etrangères 2008).

Marseille, ville tournée vers la mer et construite au fil de ses vagues migratoires, occupe une place originale dans cette diaspora comorienne. On estime en effet entre 50.000 et 80.000 personnes la communauté comorienne de la ville. Arrivés initialement dans les années 1940 comme marins, les premiers comoriens se fixèrent dans les quartiers centraux de la ville, comme dockers ou manutentionnaires, puis plongeurs ou cuisiniers dans les restaurants portuaires suite à l'évolution technologique et aux crises du transport maritime. Il s'agissait alors principalement d'hommes seuls originaires en grande majorité de la Grande Comore. Stimulée par le prestige obtenu par ces anciens "navigateurs" à leur retour au pays, une immigration masculine et de travail plus intense s'amorça dans les années 1970. Les mesures de regroupement familial initiées par les autorités française en 1974 et la proclamation de l'Indépendance des Comores en 1975 encouragèrent ensuite et jusque dans les années 1990 une grande vague de départs pour l'ancien pays colonisateur et principalement pour Marseille. Ces familles s'installèrent alors plutôt dans les cités des quartiers Nord de la ville, souvent

après une phase de transit dans les quartiers centraux (Direche-Slimani et Le Houérou 2002; Halifa 2007). Marseille, surnommée parfois "Cinquième Ile des Comores", est ainsi devenue la première ville comorienne du monde, et "ses" Comoriens sont en réalité majoritairement originaires non pas de Mayotte, mais de la Grande Comore.

#### **2.1.4 Une situation économique et sanitaire difficile en Union des Comores**

L'Union des Comores est un pays pauvre, occupant en 2008 le 137<sup>e</sup> rang sur 179 pour l'Indice de Développement Humain (Programme des Nations Unies pour le Développement (PNUD) 2008). Son revenu national brut n'était que de 680 US\$ par habitant en 2007 (The World Bank Group 2008). Alors que plus des 2/3 de la population comorienne est rurale et que près de 40% exerce dans le secteur primaire (Direction Nationale du Recensement de l'Union des Comores 2005), l'agriculture y est surtout vivrière et le pays n'est pas autosuffisant sur le plan alimentaire. Des exportations se limitant à la vanille, l'ylang-ylang ou les clous de girofle, une industrie balbutiante, et un tourisme peu développé expliquent également cette situation difficile et renforcent la dépendance du pays vis à vis des aides de l'Union Européenne, de la Ligue Arabe et des institutions financières internationales. L'importante diaspora comorienne présente à Madagascar et sur les îles de l'Océan Indien (dont la Réunion), en Afrique de l'Est et en France contribue également activement à soutenir économiquement le pays, via de nombreux investissements dans les communes d'origine de ces expatriés. Le volume de ces transferts d'argent, principalement informels, équivaldraient ainsi au budget de l'Etat comorien (Direche-Slimani et Le Houérou 2002). Mais leur apport réel dans le développement du pays est néanmoins très critiqué.

Dans ce contexte, le budget annuel alloué à la santé par le gouvernement comorien n'est que de 25 US\$ par habitant. Et 40% des dépenses de santé sont ainsi financés par le biais des aides extérieures. Il n'existe pas de sécurité sociale aux Comores, le système de santé reposant sur le principe du recouvrement des coûts. Malgré une couverture sanitaire relativement dense garantissant l'accès à une structure de soin en moins de 1h pour 90% de la population, la densité en personnel qualifié, avec un total de 115 médecins et 588 infirmières et sages-femmes exerçant sur les 3 îles, reste très en deçà de la moyenne de la zone AFRO de l'OMS. Les taux de mortalité infantile, de mortalité avant 5 ans et de mortalité maternelle y sont pourtant bien inférieurs à ceux de cette zone, et le pays est en passe de remplir nombre des Objectifs du Millénaire pour le Développement en matière de santé (World Health Organization Regional Office for Africa 2004; Programme des Nations Unies pour le Développement (PNUD) et Union des Comores 2005; World Health Organization 2006). Un

flou notable entoure néanmoins ces statistiques émanant des instances onusiennes, les "Comoros" semblant en effet souvent définis comme les 4 îles au total (ce qui est vrai en droit international mais faux dans les faits) et on ne peut exclure que la situation sanitaire de Mayotte tire ces statistiques vers le haut.

Du fait de son rattachement à la France, Mayotte jouit en effet d'un système de santé relativement performant dans ce contexte social de type africain, mais l'offre de soins demeure très nettement insuffisante au regard des standards français. Outre l'hôpital de Mamoudzou, qui possède des équipements modernes et offre des soins de qualité, l'île compte 4 "hôpitaux inter-communaux" et 16 centres de soins primaires. Le secteur libéral reste très peu développé (Florence *et al.* 2008). La sécurité sociale y a été implantée en 2005, et les soins dans le secteur public sont gratuits pour les assurés sociaux et les cas urgents. Les étrangers en situation irrégulière doivent en revanche déposer une provision financière (Gisti 2006; Florence *et al.* 2008).

## 2.2 HISTOIRE ET ORIGINE DU PALUDISME AUX COMORES

Malgré ses nombreux flux migratoires antérieurs en provenance de zones infestées (Partie 2.1.2), l'archipel était encore considéré d'après les récits de marins comme relativement exempt de paludisme au XVII<sup>e</sup> siècle, à l'exception de **Mohéli**, escale peu prisée par les navigateurs mais où étaient pourtant débarqués les esclaves (Julvez et Blanchy 1988). La transmission sur l'ensemble de l'île y fut confirmée en 1905, avec une intensité particulière sur les côtes Sud-Ouest et Ouest (Lafont 1905; Julvez et Blanchy 1988). En 1918 l'index splénique (IS) se situait entre 80 et 100%. L'index parasitologique (IP) oscillait à l'hôpital entre 10 et 30% en 1949, et en milieu rural entre 69 et 83% en 1980. En 1987, l'IP fut mesuré à 47% chez les 2-9 ans (Julvez et Blanchy 1988).

**Anjouan** demeura une escale pour les marins puis un site de convalescence pour les colons appréciés jusqu'en deuxième moitié du XIX<sup>e</sup> siècle. L'installation sur l'île de vecteurs potentiels fut en effet rendue difficile par un réseau hydrographique limité à quelques zones marécageuses côtières seulement. Des zones infestées par les "fièvres paludéennes" furent néanmoins décrites en 1870 puis 1901 (Julvez et Blanchy 1988). En 1949, l'IP était mesuré à 20% sur la côte et à 12% sur les hautes terres. Il variait de 25 à 68% en 1980, puis de 43 à 58% chez les 2 à 9 ans en 1987. L'infestation maximale était alors observée sur la côte Sud-Ouest (Julvez et Blanchy 1988).

La **Grande Comore** fut exempte de paludisme jusqu'au premier quart du XX<sup>e</sup> siècle du fait d'une absence totale de réseau hydrographique de surface en raison de sols volcaniques jeunes, non encore latéritisés et encore très poreux (Julvez et Blanchy 1988). Mais la construction de citernes d'eau pluviale dans les années 1915-1920 grâce à la relative prospérité que conféra à l'île l'essor de la vanille, du clou de girofle et de l'ylang-ylang, entraîna la probable installation de *P. vivax* dans le sud de l'île dès 1919-1920, puis une épidémie de grande ampleur à *P. falciparum* en 1923-1925 à partir du nord de l'île, marquée par une mortalité importante (15 à 35% de la population). Le paludisme demeura par la suite endémique sur toute l'île (Julvez 1995). L'IP chez des enfants de Moroni fut ainsi mesurée à 17,5% en 1949, puis entre 43 et 58% sur une population de 2 à 9 ans en 1987 (Julvez et Blanchy 1988).

Alors que plusieurs témoignages font état de la salubrité de **Mayotte** aux XVII<sup>e</sup> et XVIII<sup>e</sup> siècles, les premiers indices d'impaludation remontent au milieu du XIX<sup>e</sup> siècle. La maladie se serait installée sur l'île à l'occasion des invasions malgaches. Et les "fièvres intermittentes" puis "paludéennes" décrites en 1870 rendirent alors l'île particulièrement insalubre (Julvez et Blanchy 1988). Malgré quelques campagnes ponctuelles de lutte antivectorielle et notamment de pulvérisation intra-domiciliaire d'insecticides (1954) et une chimiothérapie de masse (instaurée en 1968), l'IP demeurait à 36,5% en 1972 et 25,5% en 1976 (Julvez et Blanchy 1988; El-Amine Ali Halidi 1995). A partir de 1976 (après l'indépendance comorienne) un programme intégré d'éradication du paludisme sur Mayotte fut instauré, associant : chimioprophylaxie de masse par chloroquine ; lutte antivectorielle avec aspersions intradomiciliaires régulières d'imagocides, épandage du larvicide Téméphos<sup>®</sup> dans les gîtes à anophèles et utilisation de poissons larvivores (les "guppies") dans les collections d'eau naturelles ou artificielles permanentes ou semi-permanentes ; et dépistage parasitaire passif chez tout consultant fébrile, actif dans les zones de micro-foyers épidémiques et chez les voyageurs maritimes arrivant à Mayotte. Les résultats furent dans un premier temps spectaculaires avec un IP de 0,9% en 1980, et le paludisme ne fut plus considéré comme un problème de santé publique. La situation resta stable jusqu'en 1991 malgré la survenue en 1984, dans les suites d'un cyclone, d'une flambée épidémique circonscrite à la partie Sud de Grande Terre (412 cas). En 1991, une épidémie à *P. falciparum* d'ampleur plus importante et partie de l'extrême Sud de l'île causa 1724 cas dont 129 accès graves et 4 décès (Julvez et Blanchy 1988; El-Amine Ali Halidi 1995). Malgré ceci, les efforts de lutte antivectorielle et de surveillance se sont affaiblis à partir de 1996, permettant la

réimplantation endémique du paludisme à Mayotte avec un nombre annuel de cas déclarés variant autour de 1.000 (Quatresous *et al.* 2005).

Etant donné la longueur du voyage maritime entre l'Asie et les Comores, l'**origine** de *Plasmodium falciparum* est vraisemblablement africaine ou malgache (Julvez 1995), bien qu'aucune données génétique ne soit à ce jour venue étayer cette hypothèse. *Plasmodium vivax* est d'origine beaucoup plus incertaine. Bien que présent en Afrique de l'Est où la population n'est pas déficitaire pour l'antigène Duffy, la possibilité de réviviscences sporogoniques rend également possible son importation directe depuis l'Asie au cours des longs voyages trans-océaniques (Julvez et Blanchy 1988).

Les 2 principaux vecteurs du paludisme sont aux Comores *Anopheles gambiae s.s.* (forme S ou "savane" (Leong *et al.* 2003)), présent sur les 4 îles, et *An. funestus*, absent de la Grande Comore (Julvez et Blanchy 1988). Ces deux espèces ne trouvant généralement pas sur les navires de gîtes propres à leur reproduction, leur importation sur l'archipel se fit probablement à l'occasion de transports maritimes de courte durée, vraisemblablement depuis les côtes est-africaines. Cette origine africaine est également suggérée pour *Anopheles gambiae s.s.* par des études de cytogénétique (Petrarca *et al.* 1990), mais une arrivée fortuite de cette espèce à l'occasion d'un cyclone ne peut pas être exclue du fait de son caractère héliophile (Julvez 1995). De même, *Anopheles funestus* a vraisemblablement aussi été transporté d'Afrique continentale, la population d'*An. funestus* retrouvée à Mohéli étant génétiquement distincte des populations malgaches (Ayala *et al.* 2006). L'époque d'implantation de ces vecteurs est connue avec précision uniquement pour *An. gambiae s.s.* en Grande Comore (construction de citernes après la Première Guerre Mondiale).

Les parasites, bien que peut-être importés de longue date via les voies commerciales, n'arrivèrent ainsi probablement en masse qu'à la faveur des grands mouvements humains des XVII<sup>e</sup> et XIX<sup>e</sup> siècles, qui apportèrent des populations impaludées (malgaches et esclaves africains) et des populations naïves pour le paludisme. L'arrivée d'anophèles sur des biotopes réceptifs, naturels ou bien créés par l'homme, fut également massive à cette époque, et la conjonction de ces deux facteurs explique certainement le caractère "épidémique" des premières manifestations du paludisme décrites historiquement sur chacune des îles de l'archipel (Julvez et Blanchy 1988).

## 2.3 QUELQUES RAPPELS UTILES DE PALUDOLOGIE

### 2.3.1 Généralités – le poids de la pandémie

Le paludisme, principalement la forme causée par le parasite hématozoaire *Plasmodium falciparum*, est actuellement responsable d'une pandémie majeure. Et bien que son aire de répartition, qui s'étendait jusqu'aux régions arctiques de la Russie, se soit considérablement réduite au cours du siècle écoulé (Hay *et al.* 2004), cette maladie menace toujours environ 50% de la population mondiale, principalement en zone intertropicale et plus particulièrement en Afrique Sub-Saharienne. Soixante pourcent des 300 à 500 millions de cas de paludisme et 90% du million de morts annuels par paludisme surviennent en effet dans cette région du monde, où cette infection reste ainsi responsable de 50% des consultations, 20% des hospitalisations et 20% des décès, qui affectent préférentiellement les nourrissons et les enfants (Roll Back Malaria *et al.* 2005). En effet, après les succès des premières décennies de lutte antipaludique, qui ont dans les années 50 et 60 conduit les experts de l'OMS à naïvement caresser le rêve d'une éradication du paludisme (Mouchet *et al.* 2004), le nombre de cas et de décès s'est drastiquement accru depuis une vingtaine d'années, avec notamment la survenue d'épidémies de grande ampleur dans des zones où l'endémicité avait été réduite. Divers facteurs ont été évoqués pour expliquer cet **échec du Programme mondial d'éradication du paludisme** et le retour en force de la maladie dans les régions inter-tropicales et surtout en Afrique Sub-saharienne (Mouchet *et al.* 2004; Greenwood *et al.* 2005) :

- Efficacité décroissante des antipaludiques classiques efficaces et bons marché que sont la chloroquine et l'association pyriméthamine-sulfadoxine, facteur principal en Afrique Sub-Saharienne (Trape 2001; Roper *et al.* 2004);
- Echec des grands programmes de démoustication avec développement de la résistance des *Anopheles* aux insecticides comme le DDT (dichloro-diphényl-trichloroéthane) et les pyréthriinoïdes ;
- Diminution voire effondrement des efforts de lutte anti-paludique dans de nombreux pays du fait de l'instabilité civile et politique, des difficultés économiques... ;
- Augmentation de la population dans les zones d'endémie et accroissement des mouvements de population au sein des zones à risque (réfugiés et déplacés, voyageurs intra- et inter-continentaux... ) ;
- Apparition de conditions climatiques plus favorables au cycle du paludisme comme les inondations et le réchauffement climatique (qui favorise la transmission en zone

d'altitude). Les épisodes de sécheresse au Sahel de ces dernières décennies auraient cependant plutôt conduit à un recul de la maladie dans cette zone ;

- Epidémie de l'infection à VIH, responsable d'une possible susceptibilité accrue au paludisme et d'un déplacement des efforts de lutte anti-paludique vers le contrôle de cette épidémie virale. A l'inverse, le paludisme pourrait exacerber l'infection à VIH (Roll Back Malaria *et al.* 2005). Ces influences réciproques restent néanmoins controversées ;
- ...

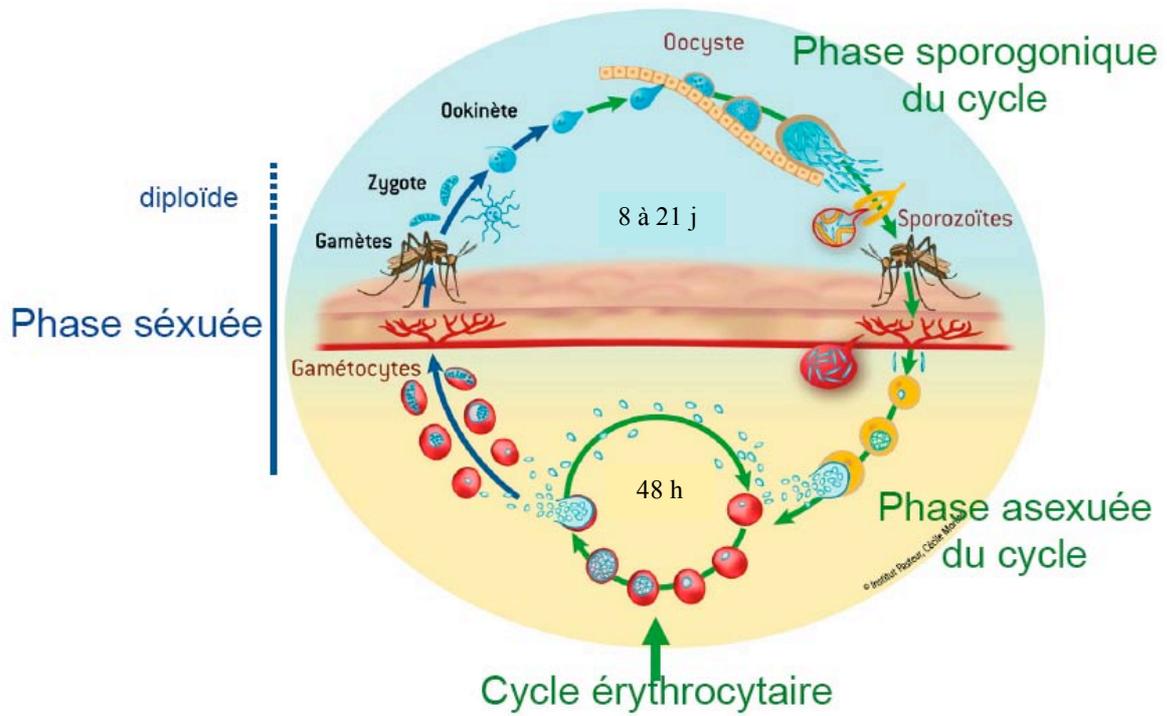
Dans les années 70, une **stratégie de lutte** (*control* en anglais) s'est donc substituée de façon plus réaliste à celle de l'éradication. Actuellement basée sur le diagnostic et le traitement rapide des cas, grâce au développement et à la diffusion des tests de diagnostic rapide et des combinaisons thérapeutiques à base de dérivés d'artémisinine ou ACT (*artemisinin-combined therapy*), et sur la prévention, grâce aux moustiquaires de lit imprégnées d'insecticide, à la pulvérisation intra-domiciliaire d'insecticides et à la chimioprophylaxie intermittente ciblée aux groupes à risques (enfants et femmes enceintes), cette stratégie a su induire ces dernières années une progressive décroissance de la morbi-mortalité liée au paludisme, qui, dans certaines régions, est ainsi retombée aux niveaux observés avant l'avènement de la chloroquinorésistance (Barnes *et al.* 2005; Nyarango *et al.* 2006; Bhattarai *et al.* 2007). Dans ces conditions et sous l'impulsion des grands bailleurs de fonds, la possibilité d'une élimination locale est à nouveau envisagée dans les régions à transmission faible à modérée et sous certaines conditions, et l'éradication de la maladie est à présent le nouvel objectif affiché (Lines *et al.* 2007; Roberts et Enserink 2007; World Health Organization 2007; Feachem et Sabot 2008; Roll Back Malaria 2008; Mendis *et al.* 2009). On attend néanmoins toujours la mise au point d'un vaccin efficace...

### 2.3.2 Notions de biologie parasitaire et vectorielle

Parmi les quatre **espèces plasmodiales** couramment reconnues pathogènes chez l'homme (*Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae*, auxquelles on ajoute désormais *P. knowlesi*, espèce zoonotique du singe responsable d'un nombre important d'infections humaines en Asie du Sud-Est (Cox-Singh *et al.* 2008; White 2008)), l'espèce *P. falciparum* est à la fois la plus répandue (90% des cas en Afrique, 50% en Asie et en Amérique) et la plus sévère.

Ces parasites intracellulaires sporozoaires coccidiomorphes (unicellulaires de l'embranchement des *Apicomplexa*), hématozoaires (comportant une phase sanguine), et

**Figure 2 – Cycle du paludisme à *Plasmodium falciparum*** (d’après un dessin de Cécile Moreau, Institut Pasteur)



haploïdes (1N chromosomes), sont transmis à l'homme par piqûre des **femelles moustiques du genre *Anopheles*** (famille des *Culicidae*). Parmi les 456 espèces d'anophèles recensées dans le monde, 60 sont reconnues aptes à la transmission du paludisme humain, et *A. gambiae* sensu stricto, *A. funestus* et *A. arabiensis* sont les vecteurs les plus importants en Afrique Sub-Saharienne (Kiszewski *et al.* 2004; World Health Organization). Seules les femelles anophèles sont hématophages et piquent l'homme pour assurer la maturation de leurs œufs. Après 2 jours de digestion (cycle gonotrophique), les œufs sont pondus dans un gîte larvaire d'eau douce de préférence calme, claire, non polluée et d'une température supérieure à 18°C. De chaque œuf sort une larve qui, après 4 stades larvaires, donne une nymphe d'où émerge un moustique adulte (imago). De l'œuf à l'adulte s'écoulent entre 8 jours (à 31°C) à 20 jours (à 20°C). Les femelles sont ensuite fécondées puis se mettent en quête d'un premier repas sanguin qui survient en général entre le 3<sup>e</sup> et le 6<sup>e</sup> jours après l'émergence. Leur périmètre d'action est de quelques centaines de mètres seulement. Elles sont plus ou moins endophiles ou exophiles (tropisme ou non pour l'intérieur des habitations humaines), anthropophiles ou zoophiles (certaines se nourrissant surtout sur l'homme, le chien ou le bœuf, d'autres n'ayant pas de préférence marquée), selon les espèces et des régions. Elles piquent principalement entre le coucher et le lever du soleil, et les pics d'agressivité varient également selon les espèces et les régions. Alternant pontes et repas sanguins, leur durée de vie varie de 3 à 12 semaines selon les conditions climatiques. Lorsque celles-ci se font trop dures (absence de gîte, baisse de l'hygrométrie ou de la température), certaines femelles peuvent attendre plusieurs mois le retour de conditions favorables à la ponte (Craig *et al.* 1999; Mouchet *et al.* 2004; Boutin *et al.* 2005).

Lors de la piqûre (Mouchet *et al.* 2004; Boutin *et al.* 2005) (Fig. 2), les sporozoïtes de *Plasmodium* contenus dans les glandes salivaires du moustique parasité gagnent le foie via la circulation générale. Il s'y produit une première reproduction asexuée dans les hépatocytes (**schizogonie** pré-érythrocytaire), qui libère des dizaines de milliers de mérozoïtes. D'hépatocytaire, le cycle du parasite devient ensuite érythrocytaire, avec envahissement des hématies par les mérozoïtes, qui se transforment en trophozoïtes. Puis à l'occasion de leur évolution en schizonte, une nouvelle reproduction asexuée a lieu, aboutissant à l'éclatement des hématies parasitées et à la libération de nouveaux mérozoïtes aptes à parasiter de nouveaux globules rouges (schizogonie érythrocytaire). Chez *P. falciparum*, un cycle érythrocytaire dure environ 2 jours, et la répétition des cycles aboutit au parasitage d'un très grand nombre d'hématies (parfois  $>10^{12}$ ), et à l'apparition de signes cliniques.

Les trophozoïtes ont également la capacité d'évoluer en gamétocytes mâles ou femelles, les formes sexuées du parasite. A l'occasion d'une nouvelle piqûre d'anophèle, ceux-ci peuvent alors être ingérés par le moustique et se féconder dans son estomac. Cette reproduction sexuée donne alors naissance à un zygote, unique phase diploïde (présence de 2N chromosomes) du parasite. Cette brève phase diploïde est l'occasion de nombreuses recombinaisons méiotiques. Si les 2 gamètes ayant fusionné sont issus de clones différents du parasite (en cas de multiparasitisme chez le patient source), ce réassortiment de chromosomes différents produit de nouvelles combinaisons alléliques et donc de la diversité ou polymorphisme génétique (Su *et al.* 2007). Le zygote évolue ensuite rapidement en ookinète qui traverse l'estomac de l'anophèle pour gagner l'hémolymphe et s'y transformer en oocyste. Ce dernier produit alors une très grande quantité de sporozoïtes qui migrent vers les glandes salivaires, à partir desquelles ils sont prêts à être injectés à l'homme à l'occasion d'une nouvelle piqûre. Ces différentes étapes constituent la **phase sporogonique** du cycle, dont la durée varie pour *P. falciparum* entre 8 et 21 jours selon la température (minimum 18°C, maximum 33°C). Pour qu'une femelle puisse transmettre le paludisme il faut donc qu'elle ait une durée de vie supérieure au cycle sporogonique. Mais une fois celui-ci complété, la femelle reste infectante toute sa vie. Ainsi, plus une femelle est âgée, plus elle a de risque d'être infectée, et plus elle est à risque de transmettre la maladie lors de ses repas sanguins ultérieurs (Craig *et al.* 1999; Mouchet *et al.* 2004; Boutin *et al.* 2005).

### 2.3.3 Eléments d'épidémiologie du paludisme à *Plasmodium falciparum*

L'existence d'un "paludisme autochtone" dans une région nécessite plusieurs conditions : présence d'espèces anophéliennes génétiquement compétentes pour assurer le cycle du *Plasmodium* ; gîtes larvaires suffisamment productifs pour entretenir une densité de vecteurs minimale ; anophèles anthropophiles et de longévité suffisante ; patients humains porteurs de gamétocytes (Mouchet *et al.* 2004). Les conditions géoclimatiques (environnement écologique, température et précipitations), jouent donc un rôle majeur dans le cycle du *Plasmodium*, la reproduction des anophèles et donc sur les niveaux de transmission et d'endémicité du paludisme.

#### *Mesure, déterminants et classification de la transmission du parasite*

L'évaluation du niveau de transmission s'effectue classiquement par la mesure le **taux d'inoculation entomologique**. Celui-ci correspond au nombre de piqûres infectantes par homme et par unité de temps (pi/h/an ou nuit), déterminé au mieux par capture d'anophèles

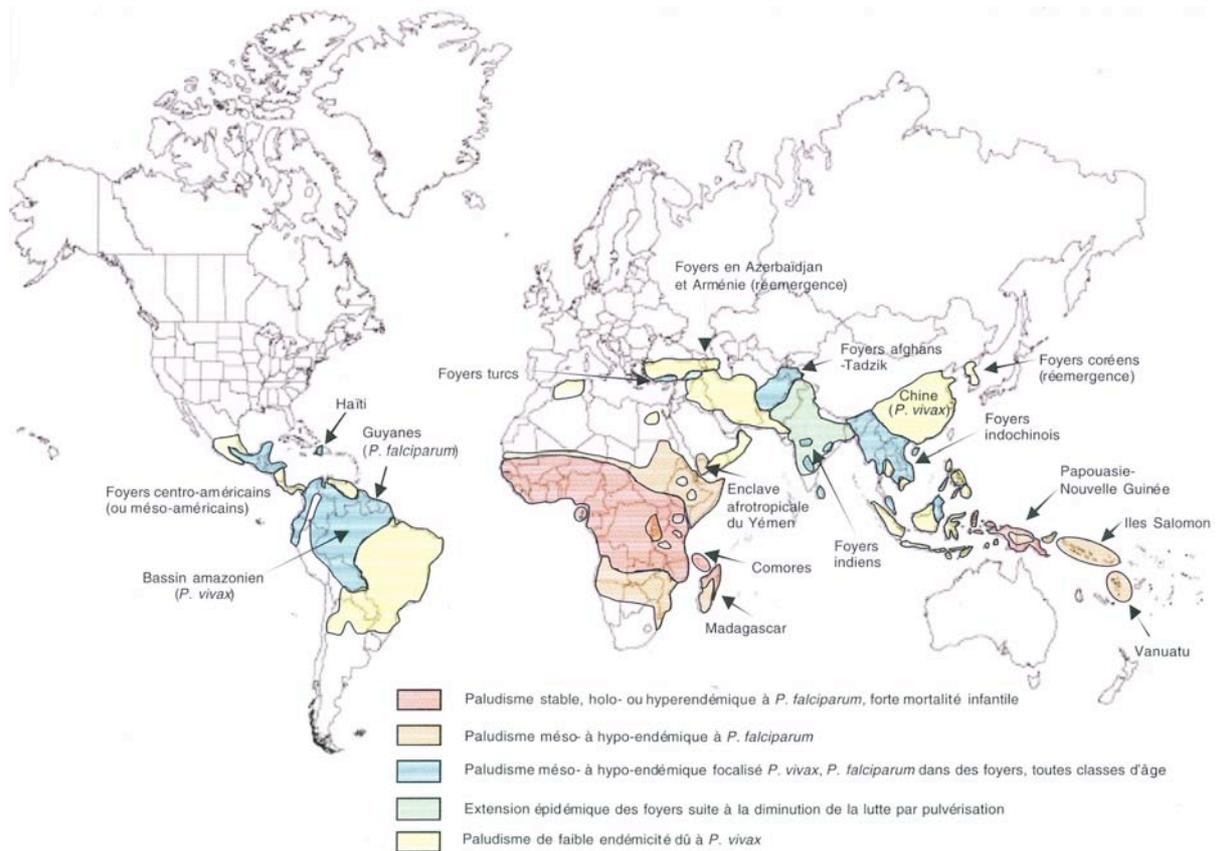
sur appât humain et détermination de la proportion de femelles infectés (mesure de l'indice sporozoïtique par dissection des glandes salivaires ou par recherche de l'antigène circumsporozoïtique (CSP) par méthode ELISA) (Mouchet *et al.* 2004).

Ce niveau de transmission dépend ainsi d'une part du niveau d'endémicité palustre dans la population humaine considérée. Il dépend d'autre part de la **compétence vectorielle** intrinsèque de chaque anophèle femelle à assurer un cycle sporogonique. Cette compétence vectorielle varie selon la température du milieu et les espèces anophéliennes, dont les aires géographiques de répartition ne sont pas les mêmes. Le niveau de transmission dépend enfin de la **capacité vectorielle** de la population de vecteurs, qui correspond au nombre de nouvelles inoculations attendues par jour à partir d'un cas humain infectant en contact avec une population anophélienne. Il s'agit d'un indice essentiellement entomologique dépendant de la densité des vecteurs, de leur comportement (anthropophilie), de la durée de vie des adultes, de la durée du cycle sporogonique, autant de facteurs influencés par l'espèce anophélienne, l'espèce plasmodiale et les conditions géoclimatiques. La variété de ces conditions explique ainsi en bonne partie la grande diversité des situations épidémiologiques du paludisme observée en zones d'endémie et le fait que le niveau de transmission soit sensible aux mesures de lutte antivectorielle et de protection contre les piqûres, mais également à l'accès aux traitements (Mouchet *et al.* 2004).

Sur cette base, la notion de **stabilité du paludisme** a été introduite par McDonald dans les années 50 (MacDonald 1952; Mouchet *et al.* 2004), correspondant à la pérennité de la transmission, sa sensibilité aux changements climatiques, et sa vulnérabilité aux interventions. Un indice de stabilité prenant en compte des facteurs exclusivement entomologiques a ainsi permis de définir les zones à paludisme stable, les zones à paludisme instable où des épidémies peuvent survenir, et les zones à paludisme intermédiaire (MacDonald 1952). D'après ces critères, les Comores sont considérés comme une zone à paludisme stable. Plus récemment, des représentations cartographiques basées sur un indice d'adaptation climatique (*climate suitability*) à la transmission du paludisme ont été développées et mises à disposition par le projet de collaboration internationale ARMA (Atlas du Risque de la Malaria en Afrique) (ARMA et Atlas du Risque de la Malaria en Afrique; Craig *et al.* 1999), et un autre indice de stabilité actuelle et potentielle de la transmission basé sur des données entomologiques et climatiques a également été proposé (Kiszewski *et al.* 2004).

### ***Indicateurs et classification de l'endémie palustre***

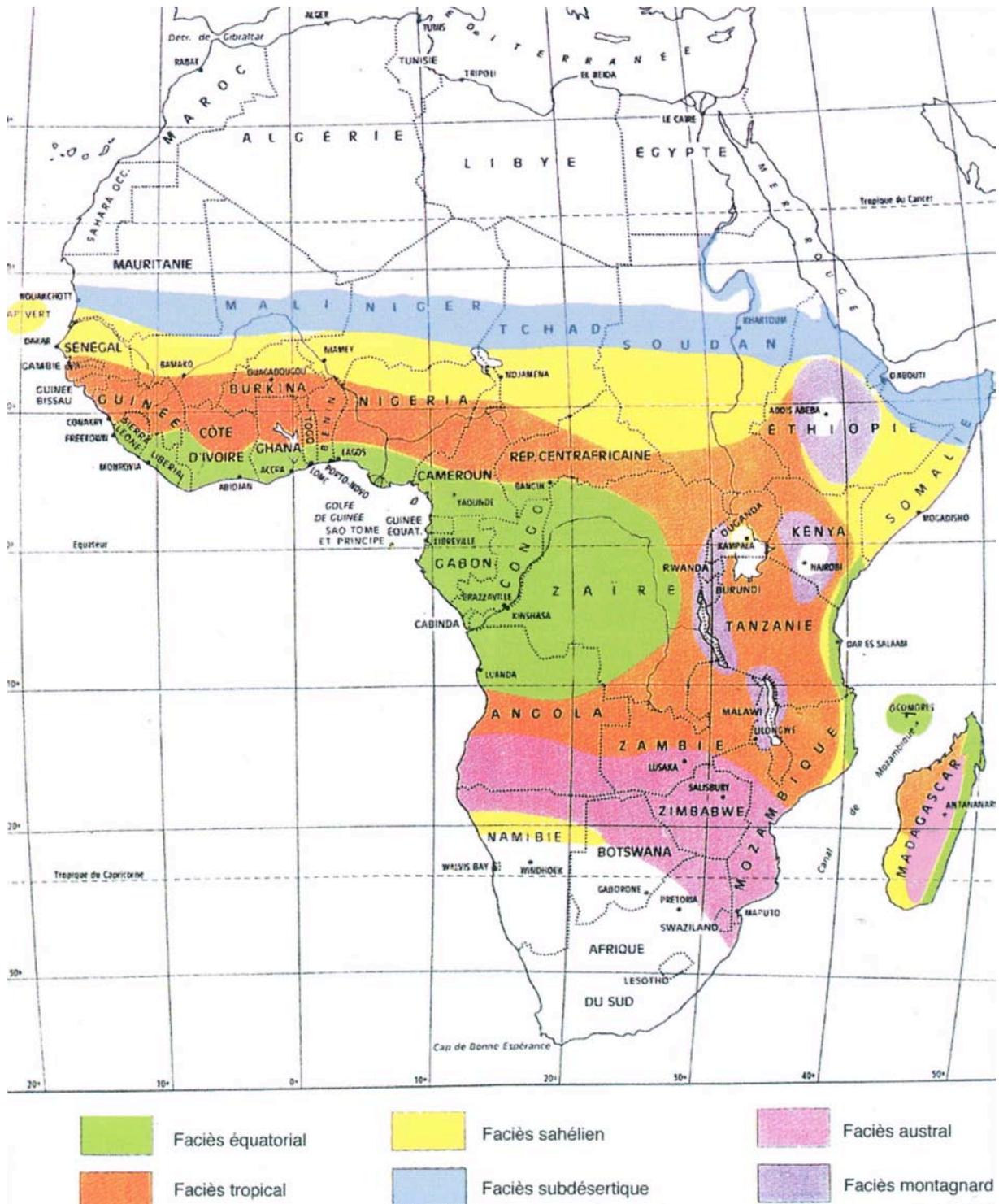
**Figure 3 – Distribution épidémiologique du paludisme dans le monde selon l'endémicité (d'après (Mouchet *et al.* 2004))**



L'endémie palustre est estimée par la **prévalence**, qui correspond à la proportion de sujets porteurs de *Plasmodium* dans un site donné, à une date donnée, et dans une classe d'âge donnée. Cette prévalence a longtemps été mesurée par l'indice splénique (IS), c'est à dire le pourcentage d'individus d'une même classe d'âge, classiquement les 2-10 ans, présentant une splénomégalie palpable. Cette mesure étant subjective et peu spécifique, on utilise actuellement l'indice parasitologique (IP), c'est à dire le pourcentage d'individus d'une même classe d'âge, habituellement les 2-10 ans, présentant une parasitémie positive. La mesure dépend bien évidemment de la méthode d'examen utilisée (goutte épaisse, frottis mince, QBC Malaria Test<sup>®</sup>, biologie moléculaire (PCR)...), et la goutte épaisse reste la méthode standard. Les faibles parasitémies ne sont cependant pas forcément associées à des manifestations cliniques, et d'autres indicateurs viennent compléter la prévalence pour mieux apprécier le degré d'endémie palustre. La **densité parasitaire**, associée à la notion **seuil pyrogénique** qui dépend du niveau de prémunition (et donc de la transmission, de l'âge et de la sensibilité individuelle), permet ainsi de différencier parasitose-maladie et parasitose-infection. L'**incidence clinique** est également utilisée pour traduire directement la morbidité du paludisme. Elle correspond au nombre de nouveaux cas, rapporté à 1000 habitants d'une population ou une tranche d'âge définie, et à un laps de temps donné (en général un an). Basée la plupart du temps sur la déclaration des cas et leur recensement par les systèmes de surveillance épidémiologique des pays touchés, lorsqu'ils existent, la quantification fiable de la morbidité du paludisme dans le monde est cependant très difficile. Enfin, des **indicateurs sérologiques** déterminés par immunofluorescence indirecte, hémagglutination passive ou de plus en plus par ELISA, détectent la présence d'anticorps anti-*Plasmodium*, qu'ils soient protecteurs ou non. Ces méthodes ne sont donc pas un moyen de quantifier la prémunition (Mouchet *et al.* 2004). Tout au plus apportent-elles une estimation du niveau de transmission (ELISA anti-CSP) (Orlandi-Pradines *et al.* 2006).

Une **classification des zones d'endémie** basée sur l'IP chez les enfants de 2 à 9 ans a été proposée dans les années 50 par Metselaar et Van Thiel (Metselaar et Van Theil 1959), définissant les zones holoendémiques (IP toujours > 75% chez les enfants de 1 an, avec forte mortalité infantile et diminution de la densité parasitaire avec l'âge), les zones hyperendémiques (IP toujours > 50%), les zones méso-endémiques (IP de 11% à 50%), et les zones hypoendémiques et épidémiques (IP < 10% mais pouvant augmenter à certaines saisons et lors des épidémies) (Fig. 3). Comme nous le verrons au chapitre 3, l'endémicité palustre aux Comores est très contrastée, car hypo-, méso-, ou hyper- voire holoendémique selon les zones. Cette classification présente cependant un intérêt limité puisque, basée sur la seule

Figure 4 – Faciès épidémiologiques du paludisme à *Plasmodium falciparum* en Afrique (d'après (Mouchet *et al.* 2004))



prévalence, elle ne prend en compte ni le développement de la prémunition avec l'âge, qui s'accompagne d'une réduction du pourcentage des porteurs de parasites et des malades, ni la composante vectorielle et la transmission (Mouchet *et al.* 2004).

### ***Faciès épidémiologiques***

Bien que les interactions entre transmission et endémicité soient encore mal comprises, les lacunes des classifications épidémiologiques ne prenant pas en compte à la fois ces 2 grandes composantes ont conduit Carnevale *et al.* à proposer en 1984 le concept de **faciès épidémiologique** (Carnevale *et al.* 1984), défini comme un ensemble de lieux dans lesquels le paludisme présente les mêmes caractéristiques, de transmission et de stabilité, d'endémicité et de prévalence parasitaire, de développement de l'immunité et d'incidence clinique. Il traduit ainsi la diversité de la dynamique des relations milieu/vecteur/parasite/maladie (Mouchet *et al.* 2004). Initialement appliquée à l'Afrique occidentale et centrale, la méthode a été étendue au reste de l'Afrique (Fig. 4) et à l'Asie du Sud-Est, découpant plusieurs strates épidémiologiques au sein desquelles la situation n'est cependant pas homogène. On distingue ainsi (Mouchet *et al.* 2004; Boutin *et al.* 2005):

- Les **faciès stables** (équatorial et tropical en Afrique, Fig. 4), où la transmission est forte (plus de 50 piqûres infectantes/homme/an, et parfois jusqu'à 1000) pendant une longue période de l'année (pérenne dans le faciès équatorial, > 6 mois dans le faciès tropical). Cette transmission entraîne un paludisme hyperendémique (IP 51-75%, endémicité intense avec périodes sans transmission pendant la saison sèche mais à recrudescence saisonnière longue), voire holoendémique (IP > 75%, toute l'année), sans épidémie. Trente à 50% des accès fébriles sont d'origine palustre. La prémunition est acquise tôt dans l'enfance (5 ans dans le faciès équatorial et 10 ans dans le faciès tropical). On observe ainsi des anémies palustres sévères chez les nourrissons et des neuropaludismes chez l'enfant responsables d'une lourde mortalité, et une fréquence importante de parasitémiés asymptomatiques chez les sujets plus âgés. Les Comores correspondent à un faciès équatorial.
- Le **faciès intermédiaire** (sahélien en Afrique, Fig. 4), où la transmission (entre 2 et 50 pi/pers/an) est à recrudescence saisonnière courte (< 6 mois par an). Le paludisme y est mésoendémique (IP 11-50%). Soixante-dix pourcent des accès fébriles sont d'origine palustre pendant la saison des pluies. La prémunition dépend de la durée de transmission mais elle est lente à s'établir. La maladie touche ainsi toutes les classes d'âge mais la tolérance reste bonne chez les adultes.

- Les **faciès instable** (sahélo-saharien, montagnard et austral en Afrique, Fig. 4), où la transmission, de faible niveau et de brève durée (voire absente certaines années) car limitée par une saison des pluies courte et/ou une température peu favorable, subit de façon importante les variations climatiques. Elle entraîne un paludisme hypoendémique ( $IP \leq 10\%$ ), avec variations annuelles et survenue d'épidémies causant une mortalité importante dans toutes les classes d'âge, du fait d'une prémunition faible voire nulle.

### ***Épidémies***

Des épidémies peuvent survenir dans les zones de paludisme instable, déclanchées par de faibles modifications des facteurs de transmission sur une population dépourvue d'immunité de prémunition (Mouchet *et al.* 2004). Les épidémies sont à distinguer des recrudescences saisonnières qui suivent en général l'arrivée des pluies ou le retrait des cours d'eau, mais elle peuvent s'y surajouter. Ces déclencheurs peuvent être des pluies excédentaires (Ouganda 1995, Mayotte 1984...), une augmentation inhabituelle des températures en montagne, où des changements de l'environnement et des méthodes culturales (riziculture). L'arrêt des traitements insecticides au cours des dernières décennies, laissant sans protection des populations sans immunité, serait cependant l'une des causes principales des épidémies observées au Sri Lanka, en Inde, à Madagascar (etc...). Les années précédant une épidémie sont généralement marquées par une augmentation sensible du nombre de cas permettant la reconstitution d'un réservoir de parasites suffisant. Il importe donc de détecter au plus tôt ces "prémices" afin de mettre en place à temps des mesures préventives (Mouchet *et al.* 2004).

#### **2.3.4 Le développement de la chimiorésistance de *P. falciparum***

##### ***Les antipaludiques***

La quinine est l'un des plus anciens antipaludiques connus. La molécule est en effet présente à l'état naturel dans l'écorce des arbres cinchona d'Amérique du Sud, utilisée de manière ancestrale par les Incas pour traiter les fièvres. Son application aux fièvres palustres fut initialement le fait des missionnaires jésuites, puis l'écorce fut introduite en Europe au début du 17<sup>e</sup> siècle comme antipaludique, et la quinine en fut finalement isolée en 1820 (Wongsrichanalai *et al.* 2002; Baird 2005). Les propriétés antipaludiques exceptionnelles de la chloroquine, ne furent, elles, découvertes qu'après que les Etats Unis d'Amérique aient volé la molécule à l'Allemagne durant la Deuxième Guerre Mondiale. Introduite en 1945, sa

**Tableau 2 – Caractéristiques des différentes molécules antipaludiques**

Molécule	Stade parasitaire cible	Utilisation	Prix* (US\$)	
<b>Antipaludiques naturels</b>				
Quinine (Quinimax®...)	QN	Schizonticide érythrocytaire	Curatif	1,50
Artéméther (Paluther®...)	AM	Schizonticide érythrocytaire	Curatif	
Artésunate (Arsumax®...)	AS	et gamétocytocide		
Dihydroartémisinine	DA			
<b>Amino-4-quinoléines</b>				
Chloroquine (Nivaquine®...)	CQ	Schizonticide érythrocytaire	Préventif et curatif	0,10
Amodiaquine (Flavoquine®...)	AQ		Curatif	
Pipéraquline				
<b>Amino-8-quinoléines</b>				
Primaquine (Primaquine®)		Schizonticide érythrocytaire	Eradication des	1,70
Tafénoquine (en développement)		et tissulaire, et gamétocytocide	formes latentes de <i>P. vivax</i> et <i>ovale</i>	
<b>Amino-alcools</b>				
Méfloquine (Lariam®)	MQ	Schizonticide érythrocytaire	Préventif et curatif	2,60
Halofantrine (Halfan®)	H		Curatif	
Luméfántrine	L			
<b>Anti-foliques et anti-foliniques</b>				
Pyriméthamine-Sulfadoxine (Fansidar®)	P-S	Schizonticide érythrocytaire	Curatif	0,10
Proguanil/chlorproguanil/cycloguanil (Paludrine®)	PG		Préventif grossesse et nourrissons	
Dapsone	D		Préventif	
<b>Autres</b>				
Atovaquone	Ato	Schizonticide érythrocytaire	Préventif et curatif	
Pyronaridine				
Doxycycline (Doxypalu®)	Do	Schizonticide érythrocytaire	Préventif et curatif	
Macrolides, fluoroquinolones...		Schizonticide érythrocytaire	Curatif	
<b>ACT (artemisinin-combined therapy)</b>				
A+L (Coartem®, Riamet®)		Schizonticide érythrocytaire	Curatif	1,40
A+AQ (ASAQ®)		et gamétocide		<1,00
A+M (Artequin®)				5,00
A+pipéraquline (Artekin®)				
A+P-S (Arsudar®)				1,40
A+pyronaridine				
A+Ato+PG				
<b>Autres associations</b>				
C+PG (Savarine®)			Préventif	
Ato+P (Malarone®)			Préventif, curatif	48,00
P+D (Maloprim®)			Curatif	
Q+doxycycline			Curatif	
Q+macrolide			Curatif	
Chlorproguanil+D (Lapdap®) +/-A			Curatif	

\* Prix d'un traitement pour un adulte, en US\$, d'après (Bosman et Mendis 2007) et l'International Drug Price Indicator Guide (IDPIG) 2009 (<http://erc.msh.org/mainpage.cfm?file=1.0.htm&module=DMP&language=english>)

supériorité s'imposa très vite et la molécule devint la pierre angulaire de la chimiothérapie antipalustre pour les 40 années suivantes, du fait de sa grande efficacité, de son faible coût, de son administration aisée et de sa bonne tolérance. Mais l'arrivée et l'expansion de la chloroquino-résistance ont peu à peu rendu nécessaire le développement d'autres molécules antipaludiques comme la pyriméthamine-sulfadoxine (devenue pendant longtemps le traitement de seconde ligne du paludisme chloroquino-résistant), la méfloquine, l'atovaquone-proguanil, ou les dérivés de l'artémisinine. Une chimiorésistance est cependant apparue pour nombre de ces molécules à leur tour (Wongsrichanalai *et al.* 2002).

Dans la pharmacopée traditionnelle chinoise, des infusions préparées à partir de l'armoise chinoise (*Artemisia annua*) sont utilisées pour traiter les fièvres depuis un millénaire. La molécule active, l'artémisinine fut isolée par les scientifiques chinois lors de la guerre du Vietnam, et ses dérivés semi-synthétiques rentrent actuellement dans la composition des traitements antipaludiques les plus efficaces et les plus prometteurs à ce jour (les ACT) (Wongsrichanalai *et al.* 2002).

Le Tableau 2 synthétise les différentes molécules, regroupées par familles pharmacologiques, et les combinaisons disponibles sur le marché des anti-paludiques. Toutes n'ont pas le même spectre d'activité sur les parasites de *Plasmodium*. La plupart ne tuent que les stades asexués sanguins (schizonticides érythrocytaires), avec des capacités de réduction parasitaire allant de 10 (doxycycline) à  $10^4$  (artémisinine et dérivés). Certaines, comme la primaquine, sont également actives contre les stades asexués hépatiques (schizonticides tissulaires) et les gamétocytes (Baird 2005). Les modes d'action de ces molécules ne sont encore pas tous connus. Leur facilité d'administration et leur tolérance varient beaucoup, ainsi que leur coût de fabrication et de distribution. Pour ces raisons, les populations impaludées se sont massivement tournées vers la chloroquine et la pyriméthamine-sulfadoxine au cours des 50 dernières années. Et sans surprise, des clones de *P. falciparum* résistants à ces deux antipaludiques sont rapidement apparus et se sont largement répandus.

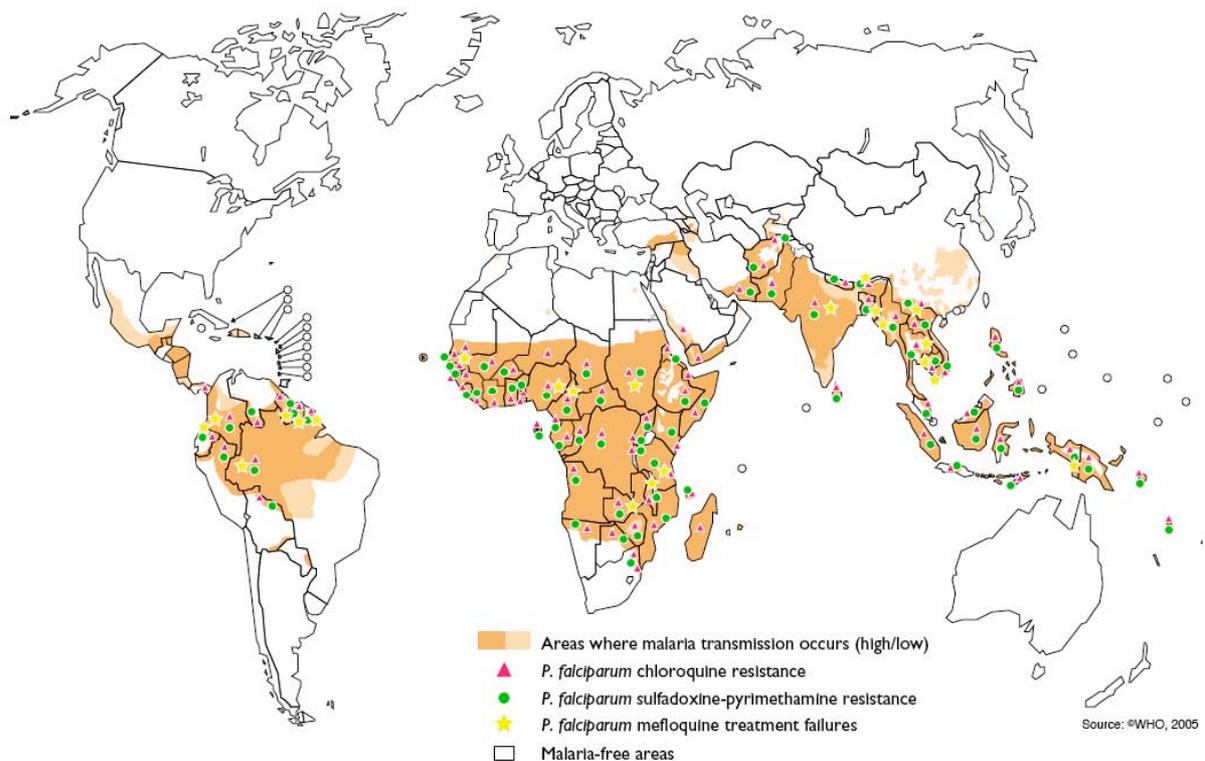
### ***Le poids de la chimiorésistance de Plasmodium falciparum***

Des mutations géniques conférant au *P. falciparum* une résistance aux antipaludiques surviennent spontanément, avec une probabilité faible cependant. Les parasites mutés, en proportion minime à l'état naturel, peuvent ensuite être sélectionnés en cas de pression médicamenteuse – ils sont alors "avantagés" – et envahir les régions où cette pression est forte. *In fine*, de nombreux facteurs contribuent au développement et à l'expansion de clones chimiorésistants. Les caractéristiques des médicaments utilisés comme leur absorption, leur

**Tableau 3 – Dates d'introduction et d'observation des premiers cas de résistances aux antipaludiques (adapté de (Wongsrichanalai *et al.* 2002))**

Médicament antipaludique	Introduction (année)	Premier cas de résistance	Délai (années)	Remarques
Quinine	1632	1910	278	
Chloroquine	1945	1957	12	Arrivée en Afrique de l'Est : 1978 Expansion à l'ensemble de l'Afrique Subsaharienne : 1988
Proguanil (cycloguanil)	1948	1949	1	
Pyriméthamine-sulfadoxine	1967	1967	0	
Méfloquine	1977	1982	5	
Halofantrine	1988	1990	2	
Atovaquone	1996	1996	0	
Atovaquone-proguanil	1996	2001	5	
Chlorproguanil-dapsonne	2003	2003	0	
Dérivés de l'artémisinine	Années 70	/	/	Pas de véritable cas de résistance prouvée
ACT	1994			Diminution d'efficacité de certains ACT en Asie

**Figure 5 – Répartition de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* en 2004 (d'après (World Health Organization 2005))**



demi-vie, leurs résistances croisées éventuelles jouent un rôle important. Le mésusage des traitements disponibles, avec automédication, prescription présomptive, doses sub-thérapeutiques ou cure de trop courte durée, semble cependant être le facteur essentiel. Une faible immunité de l'hôte favorise également l'expansion de ces résistances. L'influence du niveau de transmission est, elle, complexe et difficile à établir. Il semblerait néanmoins que la plupart de ces mutations se soient développées en Asie du Sud-Est, où la faible transmission entraîne paradoxalement une biomasse parasitaire plus importante que dans les régions à transmission plus forte du fait d'une prémunition plus faible de la population (Wongsrichanalai *et al.* 2002; Baird 2005; Conway 2007).

C'est ainsi qu'il a suffi de quelques années seulement pour qu'apparaissent et soient sélectionnés 2 clones de *P. falciparum* mutants sur le gène *Pfcr* et résistants à la chloroquine (CQ) (l'un sur la frontière Colombie-Venezuela, et l'autre sur la frontière Thaïlande-Cambodge), et qu'ils migrent à travers l'Amérique du Sud pour le premier et la quasi-totalité de l'Asie puis de l'Afrique Sub-Saharienne pour le second (Tableau 3) (Wongsrichanalai *et al.* 2002; Hyde 2005). Un phénomène similaire s'est produit pour la pyriméthamine-sulfadoxine (P-S, Fansidar<sup>®</sup>), l'autre antipaludique très bon marché et massivement utilisé suite à l'expansion de la chloroquine-résistance (Wongsrichanalai *et al.* 2002; Hyde 2005). L'émergence de souches mutées pour les *Pfdhfr* et *Pfdhps* se serait produite à plusieurs reprises en différents points du globe, mais il est vraisemblable que ces parasites résistants qui ont envahi le continent africain aient également une origine sud-asiatique. Les deux résistances (CQ et P-S) pourraient d'ailleurs avoir gagné l'Afrique via le même clone de *P. falciparum* (Roper *et al.* 2004). Des scénarii proches se répètent pour les autres molécules, comme la méfloquine, aboutissant à une répartition de la chimiorésistance du *P. falciparum* passablement inquiétante (Fig. 5). Bien qu'aucun clone de *Plasmodium falciparum* résistant aux dérivés de l'artémisinine n'ait encore été isolé en dehors de la recherche en laboratoire, des données récentes décrivant une baisse de l'efficacité de certains ACT en Asie du Sud-Est font craindre le pire (Enserink 2008; Noedl *et al.* 2008; Wongsrichanalai et Meshnick 2008).

### ***Les méthodes de surveillance de la chimiorésistance***

La surveillance de la chimiorésistance du paludisme, surtout à *P. falciparum* est donc un enjeu capital, afin d'adapter au mieux les politiques de lutte antipaludique et retarder aussi longtemps que possible l'expansion de nouveaux clones résistants aux ACT.

La chimiosensibilité de *P. falciparum* est habituellement étudiée par l'efficacité thérapeutique (test *in vivo*). Des tests *in vitro* phénotypiques de sensibilité

**Tableau 4 – Critères de succès utilisés dans les test *in vivo* de chimiosensibilité du paludisme à *P. falciparum***

Classification	Définition
<b>Classification OMS originelle (1973)</b>	
S (sensible)	Réduction de la parasitémie à J3 (<25%), négativation à J7 et absence de réapparition (à J28 du suivi)
RI	Réduction de la parasitémie à J3 (<25%), négativation à J7 et réapparition à J14
RII	Réduction de la parasitémie à J3 (<25%), mais persistance ou recrudescence de la parasitémie à J7
RIII	Absence de réduction significative de la parasitémie à J3 et J7
<b>Classification OMS modifiée (1996 puis 2001)</b>	
Echec thérapeutique précoce (ETP)	Persistance ou aggravation des symptômes avec parasitémie détectable au cours de 3 premiers jours de traitement
Echec thérapeutique tardif (ETT)	Réapparition des symptômes avec parasitémie détectable au cours du suivi, sans critère préalable d'ETP
Réponse clinique satisfaisante (RCS)	Absence de parasitémie en fin de suivi (J14 ou J28) quelque soit la température, ou de symptômes quelque soit la parasitémie, sans critère préalable d'ETP ou d'ETT

**Tableau 5 – Marqueurs génétiques de résistance aux antipaludiques (Hyde 2005; World Health Organization 2005)**

Molécule	Gène	Mutations principales	Ref.
Chloroquine	<i>Pfcr</i>	K76T (causale)	(Djimde <i>et al.</i> 2001)
	<i>Pfmdr1</i>	N86Y (associée)	
Amodiaquine	<i>Pfcr</i>	K76T	(Holmgren <i>et al.</i> 2006)
	<i>Pfmdr1</i>	N86Y	
Pyriméthamine	<i>Pfdhfr</i>	S108N + N51I + C59R (causales)	(Kublin <i>et al.</i> 2002)
Proguanil/cycloguanil	<i>Pfdhfr</i>	S108N + (A16V ou (I164L + (N51I et/ou C59R)))	(Kublin <i>et al.</i> 2002)
Sulfadoxine	<i>Pfdhps</i>	A437G + K540E (causales)	(Kublin <i>et al.</i> 2002)
Mefloquine, halofantrine, luméfantrine, quinine	<i>Pfmdr1</i>	N86Y et autres mutations ponctuelles (184, 1034, 1042 et 1246)	
Mefloquine, halofantrine, luméfantrine, quinine	<i>Pfmdr1</i>	Nombre de copies du gène >1	(Price <i>et al.</i> 2004)
Atovaquone	<i>Pfcytb</i>	Y268S, C, N	(Gil <i>et al.</i> 2003)
		Autres mutations ponctuelles	
Artémisinine et dérivés	<i>Pfatp6</i>		

("antipaludogrammes") permettent par ailleurs de mesurer la sensibilité intrinsèque des parasites. Plus récemment, la recherche par biologie moléculaire des mutations associées aux différents phénotypes de résistances s'est imposée comme un outil supplémentaire pour la détection précoce des clones résistants (tests *in vitro* génotypiques). Chaque méthode a ses avantages et ses inconvénients, et les résultats ne sont pas toujours comparables. Les outils *in vitro* ne tiennent par exemple pas compte du rôle important de l'immunité dans le succès thérapeutique.

La réponse *in vivo* a dans un premier temps été définie par l'OMS en terme de clairance parasitaire (sensible, S ; et 3 degrés de résistance, RI RII et RIII) (Tableau 4) (Wongsrichanalai *et al.* 2002; World Health Organization 2005). Cette classification demeure valide dans les zones à transmission faible à modérée, mais son application aux zones à transmission intense est délicate car de nouvelles infections peuvent alors être confondues avec des recrudescences. Un nouveau protocole a donc été introduit en 1996 puis modifié en 2001, basé sur l'évolution clinique (réponse clinique et parasitologique adéquate, échec thérapeutique précoce, échec thérapeutique tardif) (Tableau 4) (Wongsrichanalai *et al.* 2002; World Health Organization 2005). Un pourcentage d'échec supérieur à 10% doit de principe inciter à modifier les recommandations thérapeutiques.

Les tests de sensibilité *in vitro* reposent sur l'inhibition de la maturation en schizontes de parasites exposés en culture à des concentrations connues d'antipaludiques. Plusieurs méthodes de détection existent : examen sur lame au microscope, tests radioisotopiques, ELISA (World Health Organization 2005). Ces tests mesurent des CI50 (concentration d'antipaludique nécessaire dans la culture pour inhiber à 50% la maturation des parasites en schizontes). Toutes les souches parasitaires dont la CI50 est mesurée au delà d'un seuil préétabli et consensuel sont ainsi considérées comme résistantes ou de sensibilité diminuée à l'antipaludique testé.

Enfin, grâce aux avancées en biologie moléculaire de ces dernières années, des marqueurs génétiques associés à la chimiorésistance de *P. falciparum* ont été identifiés pour plusieurs antipaludiques (Tableau 5), avec des niveaux d'évidence et de corrélation variables. La résistance à la chloroquine (CQ) a ainsi par exemple été attribuée à une mutation ponctuelle K76T du gène *Pfcr* (*chloroquine resistance transporter*, chromosome 7) (Djimde *et al.* 2001). La combinaison antifolique pyriméthamine-sulfadoxine (P-S) inhibe respectivement la dihydrofolate reductase et la dihydroptéroate synthase et plusieurs mutations ponctuelles associées à une diminution de sensibilité au P-S ont ainsi été décrites respectivement sur les gènes *Pfdhfr* et *Pfdhps*. Cette résistance nécessite l'association de

plusieurs mutations sur ces gènes, et la combinaison des mutations *Pfdhfr* S180N, N51I et C59R, et *Pfdhps* K540E et A437G, est fortement prédictive d'un échec thérapeutique (Kublin *et al.* 2002). Il est ainsi désormais possible de surveiller précocement et avec précision l'émergence et les niveaux de chimiorésistance à plusieurs molécules antipaludiques.

### **2.3.5 Diversité génétique de *P. falciparum* et principes d'épidémiologie moléculaire et de génétique des populations appliqués au paludisme**

*Plasmodium falciparum* est un sporozoaire dont l'expansion mondiale aurait débuté il y a plusieurs dizaines de milliers d'années, à partir d'une petite population originelle africaine (Conway 2007; Su *et al.* 2007). Ses 14 chromosomes codent pour 5300 gènes dont une large proportion est dévolue à l'évasion immune et aux interactions hôte-parasite. Les parasites exhibent un important polymorphisme génétique (Gardner *et al.* 2002), qui est le fruit des mutations génomiques (dont le taux demeure à un niveau classique pour un eucaryote) générant de nouveaux allèles, mais surtout des nombreuses recombinaisons ou crossing-over qui se produisent au sein du moustique lors de la courte phase diploïde issue de la fécondation (voir Partie 2.3.2). Lorsqu'un moustique ingère des gamétocytes de parasites génétiquement différents, les recombinaisons méiotiques produisent ainsi un brassage des gènes à l'origine de nouvelles combinaisons alléliques et de nouveaux haplotypes (Su *et al.* 2007). Le polymorphisme génétique est donc plus importante dans les régions où la transmission du paludisme est intense, car le parasitisme humain est fréquemment polyclonal (multiparasitisme), et les recombinaisons méiotiques chez le moustique après repas sanguin surviennent alors fréquemment entre des parasites génétiquement différents. Il apparaît au contraire limité dans les zones de faible transmission (Anderson *et al.* 2000; Bogreau *et al.* 2006). De nouvelles souches de *P. falciparum* génétiquement différentes peuvent en outre être importées par des personnes infectées voyageant depuis les régions voisines. Les flux de population humaine et l'isolement géographique sont donc également des facteurs accroissant la diversité génétique au sein d'une population parasitaire (Rogier *et al.* 2005; Bogreau *et al.* 2006). A l'inverse, la diversité génétique des populations de *P. falciparum* peut être diminuée par divers types de pression de sélection, immune (chez l'homme comme chez le moustique), ou médicamenteuse, qui sélectionnent alors les parasites hébergeant des mutations conférant un degré suffisant de résistance.

Cette diversité s'exprime tout à la fois sur des séquences présumées non codantes, c'est à dire neutres ou non soumises à pression de sélection comme les microsatellites, et sur des séquences exprimées et donc soumises à pression de sélection, immune (pour les

antigènes de surface MSP1 et 2 par exemple), ou médicamenteuse (pour les gènes codant pour des protéines impliquées dans la chimiorésistance comme PfCRT par exemple) (Bogreau *et al.* 2006). Idéalement, les études d'épidémiologie moléculaire doivent reposer sur l'analyse de polymorphismes génétiques sélectivement neutres afin de ne pas sous-estimer la multiplicité des infections et la diversité génétique de la population parasitaire étudiée (Bogreau *et al.* 2006). Les microsatellites, particulièrement nombreux chez *P. falciparum* et dont la diversité de longueur est facilement mesurable (Su et Wellems 1996), représentent ainsi à ce jour les marqueurs probablement les plus intéressants (Anderson *et al.* 2000; Bogreau *et al.* 2006), à condition qu'ils soient situés à distance des loci soumis à pression de sélection comme les gènes impliqués dans la chimiorésistance. Les microsatellites trop proches peuvent en effet exprimer un déséquilibre de liaison (c'est à dire une association non aléatoire) avec des marqueurs soumis à pression de sélection situé à proximité et subir alors un "selective sweep" (ou restriction d'hétérogénéité), comme cela a été montré pour les microsatellites proches des gènes *Pfcr*t et *Pfdhfr* (Wootton *et al.* 2002; Su *et al.* 2007). Une autre approche basée sur l'étude des recombinaisons au niveau d'un grand nombre de SNP (*single nucleotid polymorphism*) dans diverses populations parasitaires a également été proposée (Mu *et al.* 2005).

La détermination du nombre d'allèles sur différents microsatellites et le calcul d'indices de diversité comme celui de Nei (He, ou *unbiased expected heterozygosity*) (Nei 1978) mettent ainsi en évidence un niveau de diversité génétique élevé en Afrique, intermédiaire en Asie du Sud-Est et plus faible en Amérique du Sud (Anderson *et al.* 2000). La comparaison des profils alléliques de différentes populations plasmodiales, par calcul d'indices de dissemblance comme les Fst, montre une structuration des populations de *P. falciparum* plus ou moins marquée selon les continents et les régions (Anderson *et al.* 2000; Bogreau *et al.* 2006). Cette structuration est le fait de l'isolement géographique (et des flux de population humaine susceptibles de faciliter les échanges d'allèles entre les populations plasmodiales), du niveau de transmission (qui favorise les infections polyclonales et donc les recombinaisons génétiques), et de la pression de sélection médicamenteuse et/ou immune qui s'exerce sur certaines souches (Anderson *et al.* 2000; Mu *et al.* 2005; Rogier *et al.* 2005; Bogreau *et al.* 2006; Conway 2007; Su *et al.* 2007).

## 3 EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE DU PALUDISME AUX COMORES

### 3.1 INTRODUCTION

Comme nous l'avons vu en Partie 2.2, le paludisme, principalement à *Plasmodium falciparum*, a, dans la foulée de son introduction aux XVIIIe et XIXe siècles sur l'archipel des Comores, évolué sur un mode endémo-épidémique. Les études récentes de prévalence décrivent ainsi un paludisme hyper- voire holoendémique sur les îles de l'Union des Comores (Grande Comore, Anjouan, Mohéli). Et suite à l'échec de la lutte intégrée à éradiquer la maladie sur Mayotte, le paludisme y persiste à un état hypoendémique assombri par la menace régulière de flambées épidémiques. Cet échec global a été le fait des insuffisances et du relâchement de la lutte antipaludique et de la surveillance épidémiologique. L'arrivée, au début des années 1980, de clones de *P. falciparum* résistants aux anti-paludiques a également mis à mal les protocoles thérapeutiques comoriens et mahorais reposant sur la chloroquine (Eichenlaub et Pohle 1980; Le Bras *et al.* 1987).

La persistance du paludisme à Mayotte a ainsi conduit la Ddass à proposer en 2002 un nouveau protocole thérapeutique pour les accès palustres non compliqués à *Plasmodium falciparum* associant en première intention chloroquine et pyriméthamine-sulfadoxine (Fansidar<sup>®</sup>), et en deuxième intention halofantrine (Halfan<sup>®</sup>) ou méfloquine (Lariam<sup>®</sup>). Ce protocole est resté en vigueur jusqu'en 2007, puis remplacé par le Riamet<sup>®</sup> (ACT combinant artéméther et luméfántrine), dont l'arrivée a été longtemps retardée (Quatresous *et al.* 2007). En Union des Comores, le même ACT (combinaison artéméther/luméfántrine, Coartem<sup>®</sup>) s'est également peu à peu imposé en première intention à partir de fin 2003, la quinine constituant un traitement de deuxième intention, et l'usage du Fansidar<sup>®</sup> restant limité aux femmes enceintes (Programme National de Lutte contre le Paludisme 2007). Nous l'avons évoqué, le programme très controversé d'élimination du paludisme instauré fin 2007 – début 2008 sur l'île de Mohéli, sous la direction d'une équipe universitaire et industrielle chinoise, et reposant sur un traitement de masse associant l'ACT artémisinine/pipéraquline (Artequick<sup>®</sup>, Artepharm Co., Chine) à la primaquine, et sans volet de lutte anti-vectorielle, bouleverse une fois de plus la donne.

Afin de retarder autant que possible le développement et l'expansion des résistances aux ACT, la surveillance de la sensibilité de *P. falciparum* aux antipaludiques doit être

optimale. Or, bien qu'il n'existe aucune revue de la littérature récente sur le sujet, cette surveillance épidémiologique, et notamment des résistances, semble avoir été irrégulière et inégale selon les différentes îles de l'archipel, et les quelques essais thérapeutiques d'efficacité et études de sensibilités disponibles semblent avoir fourni des résultats assez discordants.

Nous présentons donc ici une synthèse des données relatives à l'épidémiologie descriptive du paludisme sur l'archipel des Comores (Union des Comores et Mayotte) (données entomologiques et de transmission, nombre de cas et incidence, prévalence et endémicité, degrés de chimiorésistance), ainsi qu'à Marseille à partir des cas de paludisme importés des Comores. Son objectif est de tenter de dresser un bilan des connaissances concernant l'épidémiologie du paludisme sur l'archipel et d'en envisager les applications et les limites.

## 3.2 MATERIELS ET METHODES

### 3.2.1 Sources :

Les données sur lesquelles se base cette revue ont été identifiées à partir de diverses sources :

- Recherches bibliographiques sur la base PubMed en croisant les termes "malaria", "plasmodium", "Comoros", "Mayotte" ;
- Recherches sur le moteur de recherche Google en appliquant la même stratégie, en anglais et en français ;
- Listes bibliographiques mentionnées dans les articles précédemment publiés sur le sujet, et référençant notamment des articles parus dans des revues non indexées sur PubMed, le "monde" de la paludologie comorienne étant finalement relativement restreint et les publications fréquemment rédigées en français ;
- Différents sites Internet d'organismes nationaux ou internationaux : Organisation Mondiale de la Santé (<http://www.who.int/malaria/>) et Fond Mondial contre le Paludisme (<http://www.theglobalfund.org/programs/country/?countryid=COM&lang=en>) pour les données comoriennes ; Institut français de Veille Sanitaire (InVS, <http://www.invs.sante.fr>) pour les données concernant Mayotte ;

**Figure 6 – Gîtes larvaires d'anophèles aux Comores : A/ citerne en Grande Comore ; B/ estuaire bouché par un cordon de sable à Mohéli ; C/ marécage sur la côte au vent d'Anjouan ; D/ rivière sur la commune de Bandraboua, Mayotte (photos de S. REBAUDET, sauf A/ courtoisie de Mme R. SILAÏ)**



- Données, rapports et documents fournis par le Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP) de l'Union des Comores à l'occasion de la venue de Madame Rahamatou SILAÏ (technicienne au PNL) à Marseille en juin 2008 et d'un séjour effectué aux Comores en septembre 2008 ;
- Données fournies par le Dr LEPERE, médecin au dispensaire de Bandraboua à Mayotte ;
- Quelques documents académiques de Thèse ou de Master ;
- Données fournies par le Centre National de Référence (CNR) paludisme de Marseille, qui recense tous les cas de paludisme importés pris en charge dans les hôpitaux de la ville.

### 3.2.2 Nature des données recensées

Ont été synthétisées dans cette revue : des données entomologiques (vecteurs, gîtes et niveaux de transmission), des données de morbidité (incidence des cas de paludisme et son évolution sur l'archipel des Comores), des données d'endémicité (prévalence), et enfin les données de chimiorésistance.

## 3.3 DONNEES ENTOMOLOGIQUES : VECTEURS, GITES ET NIVEAUX DE TRANSMISSION

Peu de données sont disponibles et accessibles concernant les vecteurs du paludisme aux Comores et les taux de transmission de la maladie.

La transmission du paludisme sur l'archipel des Comores est assurée par 2 espèces d'anophèles : *Anopheles gambiae* s.s. sur les 4 îles (forme moléculaire S et forme chromosomique Savane, en Grande Comore et à Mayotte (Leong *et al.* 2003)) et *An. funestus*, absent de Grande Comore (Blanchy *et al.* 1999). Toutes deux sont anthropophiles et endophiles et pondent dans des gîtes dont l'eau doit être relativement claire. *An. gambiae* s.s. affectionne notamment les collections d'eau de pluie et les ornières ensoleillées, ainsi que les citernes (Fig. 6A) et bassins d'ablution très nombreux en Grande Comore, à condition qu'ils soient entretenus et pas trop pollués. Les estuaires bouchés (Fig. 6B) par des cordons de sable que l'on trouve sur Anjouan, Mohéli et Mayotte offrent également des gîtes larvaires classiques à *An. gambiae*, mais dont la qualité peut être altérée par le déversement de produits organiques par la population locale ou l'entrée trop importante d'eau salée. *An. funestus*, lui, pond préférentiellement dans les bas-fonds végétaux ombragés (Blanchy *et al.* 1999).

**Tableau 6 – Données entomologiques : vecteurs et niveaux de transmission**

	Grande Comore			Mohéli		Mayotte
	1989 <sup>a</sup>	2003 <sup>b</sup>	Nov. 2007 <sup>b</sup>	Fév. 2003 <sup>c</sup>	Nov. 2007 <sup>b</sup>	Mai-juil 2008 <sup>d</sup>
<b>Nombre d'anophèles femelles capturées*</b>			159	188	258	53
<b>% <i>An. gambiae s.s./An. funestus</i></b>	100/0	100/0	100/0	24/76	38/62	9/64
<b>Infectivité (indice sporozoïtique) (%), chez <i>An. gambiae s.s./An. funestus</i>§</b>			5,7/--	1,9/4,1	2,1/2,7	-
<b>Taux d'inoculation entomologique (nombre de piqûres infectante par homme et par unité de temps)</b>	20/an	10/an	-	0,014 – 0,916/nuit	-	-

<sup>a</sup> d'après (Blanchy *et al.* 1999)

<sup>b</sup> d'après des données fournies oralement et non publiées

<sup>c</sup> d'après (Robert 2003)

<sup>d</sup> d'après (Le Mabec et Thouillot 2008)

\* captures sur appât humain +/- captures au pyrèthre +/- captures au piège lumineux CDC

§ mesurée sur les femelles anophèles par détection de l'antigène CSP par ELISA

En **Grande Comore**, seul *An. gambiae s.s.* est donc présent. De vieilles données entomologiques font état de densités peu élevées sur l'île. Et le taux d'inoculation entomologique (TIE) avait été estimé à 20 piqûres infectantes par homme et par an (Tableau 6) (Blanchy *et al.* 1999). Une nouvelle détermination de ce TIE a été réalisée en 2003. Il ne nous a malheureusement pas été possible d'en récupérer le rapport mais d'après le PNLP (données orales), cette étude ferait état d'un TIE de l'ordre de 10 pi/homme/an, avec de fortes disparités régionales dépendantes de la pérennité du remplissage des citernes. La transmission du paludisme en Grande Comore est ainsi globalement considérée comme perannuelle à l'exception de la côte Est, où les citernes s'assèchent en saison sèche (Tchen *et al.* 2006). Un récent travail sur appâts humains a été réalisé sur l'île juste avant le lancement en novembre 2007 du programme sino-comorien d'élimination du paludisme à Mohéli par traitement antipaludique de masse. Il confirme l'absence d'*An. funestus* en Grande Comore et le taux d'infectivité des *An. gambiae s.s.* capturés était de 5,7% en cette fin de saison sèche (Tableau 6) (données fournies oralement et non publiées). Il faut enfin noter que les effets du réchauffement climatique semblent se faire sentir sur la transmission du paludisme en Grande Comore, qui aurait pris de l'altitude ces dernières années (données PNLP, non publiées).

Sur **Anjouan**, *An. gambiae s.s.* et *An. funestus* sont tous deux des vecteurs importants de paludisme. *An. funestus* pullule dans les zones marécageuses de la côte Sud-Ouest en fin de saison des pluies, mais *An. gambiae* semble absent de la côte Nord et des Hauts (Tchen *et al.* 2006). Aucune donnée précise sur le niveau de transmission n'a cependant pu être obtenue concernant cette île.

L'île de **Mohéli** est géographiquement relativement homogène et offre de nombreux gîtes naturels pour *An. gambiae s.s.* et *An. funestus*. Les cultures sur brûlis qui détruisent la forêt fournissent en plus de nouveaux lieux de vie à *An. gambiae s.s.*, espèce assez héliophile (Tchen *et al.* 2006). Une étude entomologique ponctuelle a été réalisée sur 3 sites de l'île en février 2003 en collaboration avec l'Institut Pasteur de Madagascar (Tableau 6) (Robert 2003). Les captures d'anophèles femelles ont alors retrouvé une nette prédominance d'*An. funestus*, et après étude de leur infectivité, le taux d'inoculation entomologique estimé en cette saison des pluies 2003 affichait de grandes disparités, approchant 1 pi/homme/nuit sur le site le plus infesté, Ouala I, situé au Sud-Ouest de l'île. La transmission apparaît donc globalement intense à Mohéli (Robert 2003). Un travail complémentaire réalisé en novembre 2007 a retrouvé de nouveau une nette prédominance d'*An. funestus*. L'infectivité des 2 espèces à cette période de l'année était supérieure à 2% (Tableau 6) (données fournies oralement et non publiées). Mais l'application du traitement de masse par ACT à l'ensemble de la population a

**Tableau 7 – Morbi-mortalité du paludisme aux Comores**

	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
<b>Nombre de cas déclarés de paludisme (% de cas confirmés)</b>													
<b>UdCOM<sup>a</sup></b>	15507	15509		3844	9793	9618	3718			54078	41308	<b>74422</b> (30%)	65914 (26%)
<b>GC</b>												<b>51148</b> (34%)	45197
<b>ANJ</b>												<b>15408</b> (19%)	16565
<b>MOH</b>												<b>7866</b> (27%)	3412
<b>MAY<sup>b</sup></b>	1233	1192		925	1165	1183	1022	1841	792	743	500	<b>496</b>	
<b>BDB (% des cas de MAY)<sup>b</sup></b>									<b>30%</b>	<b>58%</b>			
<b>MAY (% de cas présumés importés)<sup>b</sup></b>									<b>13,8%</b>			<b>17,3%</b>	<b>30%</b>
<b>BDB (% de cas présumés importés)<sup>b,c</sup></b>									<b>4,0%</b>				<b>7%</b>
<b>MARS (importation des Comores)<sup>d</sup></b>									<b>≥ 823 entre 2001 et 2005</b>			84	111
<b>Incidence (/1000 habitants) (incidence chez les moins de 5 ans)</b>													
<b>UdCOM<sup>a</sup></b>												<b>106</b> (317)	94
<b>GC<sup>e</sup></b>												<b>146</b> (441)	129
<b>ANJ<sup>e</sup></b>												<b>51</b> (133)	55
<b>MOH<sup>e</sup></b>												<b>157</b> (511)	83
<b>MAY<sup>b</sup></b>		9,5		6,8	8,2	8	6,6	11,5	4,8 (6,5)	4,4 (2,8)	3,1 (2)	<b>3,1</b> (1,9)	<b>2,9</b>
<b>BDB<sup>b,c</sup></b>									32	58	35	<b>27</b>	<b>21</b>
<b>Nombre d'hospitalisations pour paludisme (% de cas confirmés)</b>													
<b>UdCOM<sup>a</sup></b>				1468	2320	3999	820	749		10160	16332	<b>19592</b> (41%)	19645 (35%)
<b>MAY<sup>b,f</sup></b>	>39	>68	152	>82	233	252	>102		96	79	54	56	43
<b>Nombre déclaré de décès liés au paludisme</b>													
<b>UdCOM<sup>a</sup></b>				50	82	16				28	92	<b>52</b>	48
<b>MAY<sup>b,f</sup></b>				3	4	8	5	5	2	2		1	1

Union des Comores (UdCOM) = Grande Comore (GC), Anjouan (ANJ) et Mohéli (MOH)  
 Mayotte (MAY) : la commune de Bandraboua (BDB), dans le Nord-Est de l'île, représente le principal foyer de transmission du paludisme  
 Marseille (MARS)

<sup>a</sup> d'après l'OMS (World Health Organization 2008) et les données fournies par le Programme National de Lutte contre le Paludisme de l'UdCOM (NB, les données pour l'année 2001 ne couvrent que la période Janvier à Mai, les données pour 2007 ne comprennent pas les mois d'octobre à décembre)  
<sup>b</sup> d'après l'InVS (Quatresous *et al.* 2005; Solet *et al.* 2007), et (Tchen *et al.* 2006) (NB, données de pédiatrie manquantes pour le 2<sup>e</sup> semestre 2004)  
<sup>c</sup> données personnelles fournies le Dr Lepère, du dispensaire de Bandraboua  
<sup>d</sup> d'après (Ali Mohamed 2007) pour 2001-2005 et le CNR-paludisme de Marseille (sous-estimation importante) pour 2006-7  
<sup>e</sup> incidence calculée avec les cas présumés et les dernières estimations de population (cf tableau 1. Le dernier recensement véritable en Union des Comores datant de 2003)  
<sup>f</sup> d'après (Receveur *et al.* 2004), nombreuses données manquantes

semble-t-il conduit à une rapide diminution du taux d'anophèles femelles positives (données fournies oralement et non publiées). Une nouvelle mesure du taux d'inoculation entomologique en différents points de l'île, aux 2 saisons et sur un nombre plus importants de nuits et d'appâts humains serait néanmoins bienvenue pour guider la lutte antivectorielle nécessaire à la consolidation des effets de ce traitement de masse.

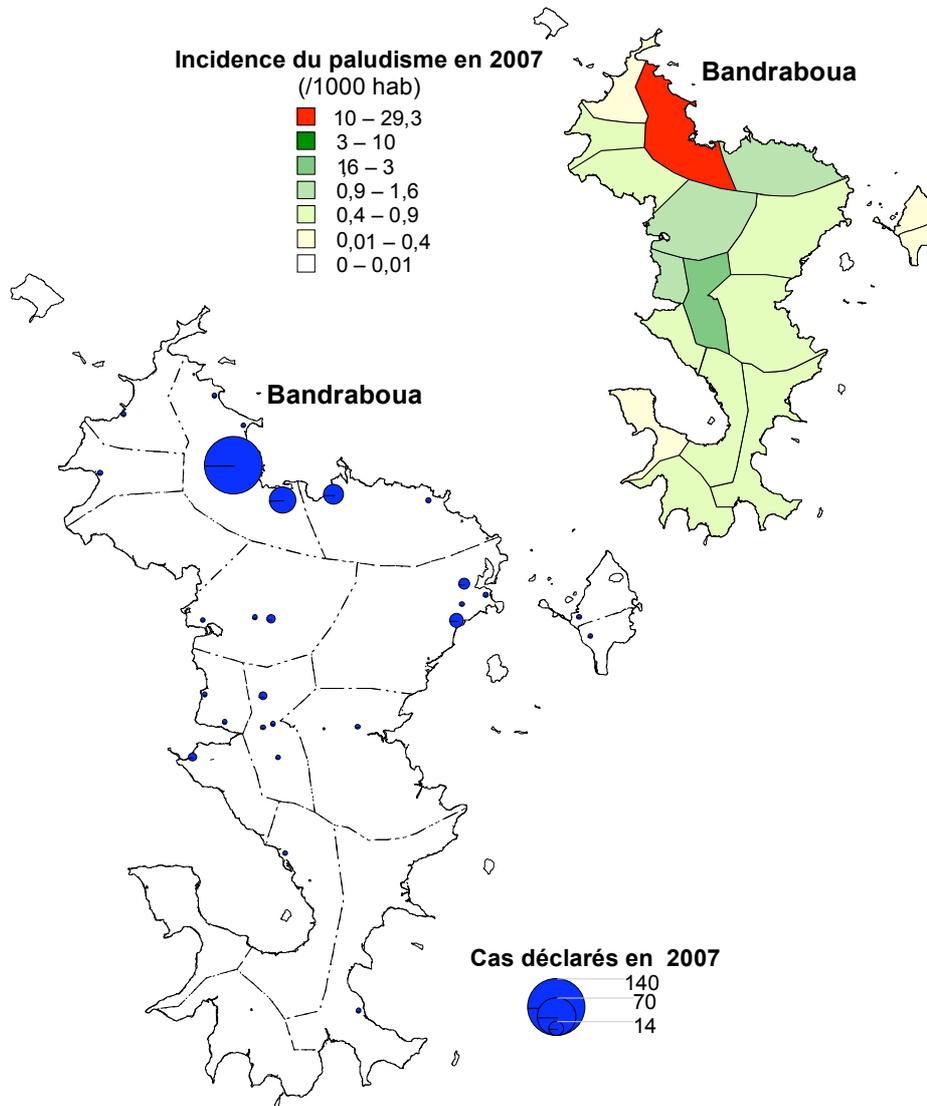
A **Mayotte**, les estuaires ensablés étaient considérés comme de très bon gîtes larvaires pour *An. gambiae s.s.*, principalement en saison sèche. La pollution organique des cours d'eau due à la croissance démographique et les entrées d'eau salée en fonction du degré de communication de ces estuaires avec la mer, ont néanmoins chassé *An. gambiae* de ses habitats naturels vers des gîtes anthropiques (ornières, fosses d'emprunt de terre...) qui seraient surtout productifs après les périodes de pluie intense (Blanchy *et al.* 1999; Quatresous *et al.* 2005). Alors qu'*An. funestus* était considéré comme éradiqué de l'île depuis 1990, grâce aux pulvérisations intra-domiciliaires d'insecticides et à l'extension des cultures vivrières aux zones encaissées et humides, 2 spécimens ont été à nouveau capturés sur l'île en 2004 (Blanchy *et al.* 1999; Tchen *et al.* 2006). Une étude entomologique menée par capture sur piège lumineux à Bandraboua, principal foyer de paludisme de Mayotte, durant la saison sèche 2008, a confirmé la réémergence d'*An. funestus* (64% des anophèles capturés) (Tableau 6). Elle pose ainsi la question du rôle de cette espèce dans le maintien de la transmission en saison sèche (données récoltées par Le Mabec et Thouillot (Le Mabec et Thouillot 2008), non publiées, et fournies par le Dr Lepère, du dispensaire de Bandraboua, Mayotte). Des informations complémentaires, notamment sur l'infectivité de ces moustiques, sur leur présence en saison des pluies et dans d'autres zones de l'île, et l'établissement d'une cartographie précise des gîtes seraient très intéressants pour adapter au mieux les stratégies de lutte antivectorielle.

Globalement, les connaissances relatives aux vecteurs du paludisme sur l'archipel des Comores – densité, comportement, résistance aux insecticides, gîtes larvaires, dynamique des populations anophéliennes, niveaux de transmission du paludisme – semblent donc encore relativement peu fournies et mériteraient des études complémentaires.

### 3.4 INCIDENCE ET MORBIDITE DU PALUDISME

**Espèces parasitaires** – Les études parasitologiques menées depuis plusieurs décennies par le PNLP de l'Union des Comores montrent la très nette prédominance de l'espèce *Plasmodium falciparum* (96% des accès). *Plasmodium malariae* représenterait

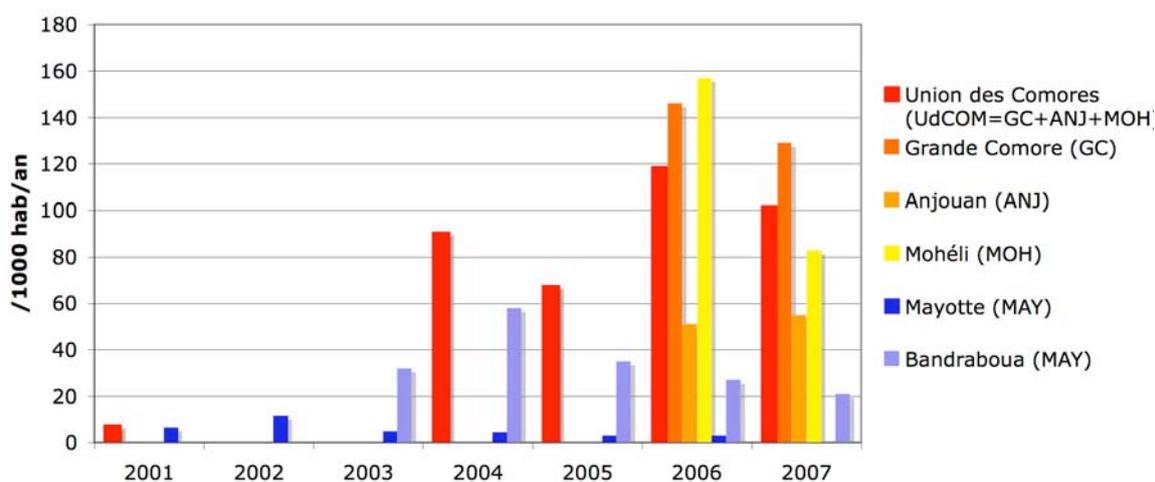
**Figure 8 – Nombre de cas de paludisme déclarés et incidence de la maladie par commune à Mayotte en 2007 (d'après (Le Mabec et Thouillot 2008), source Ddass)**



environ 2%, *Plasmodium vivax* 1,5% et *Plasmodium ovale* 0,5% des cas (Programme National de Lutte contre le Paludisme 2007). *Plasmodium vivax* serait surtout présent dans les villes, anciens sultanats où la population, génétiquement plus arabe ou perse que bantoue, y serait peut-être plus sensible (Blanchy *et al.* 1999). Sur Mayotte, *Plasmodium falciparum* a été responsable en 2005 et 2006 de près de 90 % des accès palustres enregistrés et *Plasmodium vivax* de respectivement 2,6 % et 0,7 % (Solet *et al.* 2007#).

**Incidences globales** – Les données relatives au nombre de cas d'accès palustres collectées auprès du PNLP des Comores, de l'OMS, de l'InVS et dans la littérature, permettent d'estimer l'incidence annuelle du paludisme à environ 100 cas pour 1000 habitants en Union des Comores (Tableau 7, Fig. 7). La maladie y serait responsable de 39% des consultations (Programme National de Lutte contre le Paludisme 2007), de près de 20000 hospitalisations et d'une cinquantaine de décès, représentant le problème de santé publique principal du pays. La Grande Comore semble l'île la plus touchée, probablement du fait des citernes et bassins d'ablution, et Anjouan la plus préservée avec une incidence plutôt de l'ordre de 50/1000. Bien en deçà, l'incidence globale du paludisme à Mayotte serait actuellement inférieure à 5/1000 (Tableau 7, Fig. 8).

**Figure 7 - Evolution de l'incidence des accès palustres en Union des Comores et à Mayotte**



**Biais** – Ces données sont malheureusement parcellaires et l'objet de nombreux biais d'information. Outre la liste non exhaustive des sources compilées ici, certaines années sans données et l'écart parfois très important du nombre de cas déclarés d'une année sur l'autre jettent le doute sur la fiabilité de ces taux d'incidence. Les graves difficultés politiques et économiques qu'a connues l'état de l'Union des Comores n'ont certes pas facilité le travail du PNLP. Les insuffisances dans l'enregistrement ou la déclaration (pourtant obligatoire à

Mayotte depuis 2001) des cas sont également des facteurs pouvant avoir sous-estimé l'incidence, y compris à Mayotte. A l'inverse, plus des 2/3 des cas de paludisme déclarés par l'Union des Comores n'ont pas été confirmés biologiquement, surestimant ainsi certainement le nombre réel des accès palustres (Tableau 7). A Mayotte au contraire, la quasi-totalité des cas est prouvée depuis 2002 grâce à la mise à disposition des dispensaires de tests de diagnostic rapide (Optimal<sup>®</sup>) (Quatresous *et al.* 2005).

**Variations saisonnières** – Les cas de paludisme surviennent globalement de manière per-annuelle sur l'archipel. Néanmoins, les mesures d'incidence montrent une nette recrudescence du paludisme pendant la saison des pluies, soit de novembre à avril-mai, que ce soit en Union des Comores (Programme National de Lutte contre le Paludisme 2007) ou à Mayotte (Quatresous *et al.* 2005; Solet *et al.* 2007), période où les gîtes larvaires sont les plus productifs.

**Hétérogénéité géographique, importation** – Sur chaque île, la situation n'est pas non plus uniforme géographiquement. L'archipel est en effet soumis à des régimes de vents et d'alizés impliquant des conditions climatiques très différentes d'une côte à l'autre. Et la nature différente du relief et de la conformation des réseaux hydriques de surface favorisent une répartition non uniforme des gîtes. Ainsi à Mayotte entre 2002 et 2007, plus de 40% des quelques centaines de cas annuels déclarés ont-ils été observés sur la seule commune de Bandraboua, située au Nord-Est de l'île, et dont la population représente moins de 5% de la population globale de l'île (données fournies par le Dr Lepère, médecin au dispensaire de Bandraboua). L'incidence du paludisme y était en 2007 de 21/1000 (Tableau 7, Fig. 7 et 8). Sur la commune, l'incidence est également très inégale d'un village à l'autre et selon les classes d'âge. De plus, tandis qu'en 2003-2004 13,8% des cas mahorais étaient possiblement importés, principalement de l'Union des Comores, la proportion du paludisme d'importation à Bandraboua n'était que de 4% (défini sur place par la notion d'un séjour à l'extérieur de l'île entre 1 et 3 semaines précédant l'accès palustre). Cette proportion se situait toujours à 7% en 2007 alors qu'elle était passée à 30% pour l'ensemble de l'île, la grande majorité de ces patients arrivant toujours de l'Union des Comores (Tableau 7), et principalement d'Anjouan. Tout ceci suggère une transmission locale importante dans le foyer résiduel de Bandraboua (Solet *et al.* 2007).

**Evolution temporelle** – La baisse progressive de l'incidence observée à Mayotte depuis 2002 et notamment à Bandraboua (Tableau 7, Fig. 7), est probablement le fruit du renforcement de la lutte antipaludique et de la modification du protocole thérapeutique. Pour l'Union des Comores, on attend toujours les effets du passage aux ACT comme thérapeutique

de première intention pour le traitement des accès non compliqués à *P. falciparum*, initié en 2003.

**Populations cibles** – Comparer les caractéristiques des populations touchées sur les différentes îles relève de la gageure car les données disponibles sont de nature différente : incidence par tranche d'âge et par sexe pour Mayotte (Solet *et al.* 2007), nombre de cas < 5 ans tous sexes confondus en Union des Comores (données fournies par le PNL). On peut néanmoins en se référant au recensement de 2003 estimer l'incidence du paludisme en 2006 chez les moins de 5 ans à moins de 2/1000 à Mayotte, 317/1000 pour l'Union des Comores, 441/1000 en Grande Comore, 133/1000 à Anjouan, et 511/1000 à Mohéli. La progressive diminution de ce taux à Mayotte s'associe à un déplacement de la morbidité palustre vers les hommes jeunes, qui représentent à présent la population la plus à risque sur cette île. Les 15-24 ans ont ainsi fourni à la commune de Bandraboua 40% de ses cas sur la période 2002-2007, alors qu'ils ne représentent que 5% de sa population totale. Ces hommes en attente de mariage dorment en effet souvent sans moustiquaires, à l'écart du noyau familial, dans leur propre case (appelée "*banga*") qui bénéficie moins des pulvérisations insecticides pratiquées par les services de lutte antivectorielle. Ils partent également souvent cultiver quelques semaines dans les hauts de l'île dans des conditions précaires propices à la transmission du paludisme (Quatresous *et al.* 2005).

**Paludisme importé à Marseille** – Les hôpitaux de Marseille, "première ville comorienne du monde", prennent en charge chaque année plusieurs centaines de cas de paludisme, en grande majorité importés des Comores (Parola, Minodier *et al.* 2005). La chimioprophylaxie est en effet trop rarement utilisée par la population comorienne de la ville se rendant aux Comores, ou trop souvent inappropriée (Ali Mohamed 2007). Le nombre de cas recensé en 2007 par le Centre National de Référence du paludisme n'était pourtant que de 161 (données fournies par le CNR), cette diminution observée ces dernières années, pouvant être le reflet des effets du renforcement de la lutte antipaludique sur l'archipel avec notamment le passage aux ACT. Les campagnes de sensibilisation en matière de prévention adressées aux "Comoriens" de Marseille pourrait également commencer à porter leurs fruits.

### 3.5 PREVALENCE ET NIVEAUX D'ENDEMICITE

Les dernières données de prévalence du paludisme aux Comores publiées ont près de 15 à 20 ans maintenant (Blanchy *et al.* 1999). Mesurés chez des enfants de 2 à 9 ans entre 1986 et 1988 sur Grande Comore, Anjouan et Mohéli, et chez des enfants scolarisés à

Mayotte en 1996, les indices plasmodiques (IP, proportion d'enfants ayant une goutte épaisse positive) étaient alors respectivement de 44,3%, 18,6%, 35,6% et 1,3% (Tableau 8) (Julvez *et al.* 1997; Blanchy *et al.* 1999). Une nouvelle étude menée en 2007 sur Grande Comore et Mohéli et rapportée par le PNLP des Comores vient rajeunir un peu ces données (Programme National de Lutte contre le Paludisme 2008).

**Tableau 8 – Prévalence et niveau d'endémicité du paludisme aux Comores**

	Index plasmodiques (%)						
	1981 <sup>a</sup>	1986-1988 <sup>a</sup>					1996 <sup>b</sup>
	< 2 ans	2-9 ans	10-14 ans	2-9 ans saison sèche	2-9 ans saison des pluies	enfants scolarisés	Population globale
<b>Grande Comore<sup>a</sup></b>	44,6	<b>44,3</b>	31,3	41,1	47,2		5 à 60% (mai 2007)
<b>Anjouan<sup>a</sup></b>	30,8	<b>18,6</b>	16,2	23,3	15,3		
<b>Mohéli<sup>a</sup></b>	43,7	<b>35,6</b>	12,3	46,2	23,4		<b>23%</b> (5 à 94%, sept. 2007) (0,33% en 2008) <sup>d</sup>
<b>Mayotte<sup>b</sup></b>	0,8					<b>1,3</b>	

<sup>a</sup> d'après (Blanchy *et al.* 1999)

<sup>b</sup> d'après (Julvez *et al.* 1997)

<sup>c</sup> d'après (Programme National de Lutte contre le Paludisme 2008)

<sup>d</sup> après le traitement de masse à Mohéli de décembre 2007 et janvier 2008

Ainsi, en **Grande Comore** (GC), l'IP présente très peu de variations saisonnières car les gîtes, surtout anthropiques (citernes et bassins d'ablution), persistent en toute saison (Blanchy *et al.* 1999; Programme National de Lutte contre le Paludisme 2008). En 1986-1988, l'IP était stable jusqu'à 9 ans puis chutait significativement après 10 ans, signant une acquisition assez rapide de la prémunition. L'IP en dépistage actif variait alors de 20 à 70 % suivant les villages, en fonction du nombre des citernes et bassins d'ablution, et de l'altitude. Les grandes localités étaient moins impaludées, l'adduction d'eau limitant l'utilisation des citernes, souvent non entretenues et polluées (Blanchy *et al.* 1999). Dans les localités de la côte Ouest et Sud, où les précipitations sont les plus importantes, le paludisme sévissait à l'état hyperendémique tout le long de l'année. Sur la côte Est, sous le vent, et la partie Nord-Ouest de l'île, le paludisme était hyperendémique en saison pluvieuse et méso- voire hypoendémique en saison sèche. Ces variations provenaient de l'assèchement et de la remise en eau des citernes au grès de la pluviométrie (Blanchy *et al.* 1999; Tchen *et al.* 2006).

Vingt ans plus tard, en mai 2007, l'IP variait de 5% à environ 60% (Tableau 8)(Programme National de Lutte contre le Paludisme 2008). Et la répartition de la prévalence semblait s'être quelque peu modifiée, puisque les localités du Nord, de l'Est et celles situées au Sud du Kartala étaient dorénavant les plus infestées en ce début de saison sèche (IP>30%).

Les localités situées au nord-ouest de l'île l'étaient moyennement ( $20\% < IP_{moyen} < 30\%$ ) et celles du centre-Ouest (Moroni, Itsandra) étaient les moins infestées ( $5\% < IP_{moyen} < 9\%$ ) (Programme National de Lutte contre le Paludisme 2008). Cette évolution tient peut-être dans l'amélioration de l'adduction d'eau ayant conduit à l'abandon des citernes, principalement en ville (dont Moroni, la capitale, située à l'Ouest de l'île).

Sur **Anjouan**, les études de 1986-1988 mettaient en évidence de fortes disparités locales et saisonnières des indices plasmodiques (Blanchy *et al.* 1999). La côte Sud-Ouest (avec la localité de Pomoni) était la région de l'île la plus arrosée en toute saison, avec des plaines inondées en saison pluvieuse et des estuaires bouchés en saison sèche. Cette zone était donc significativement la plus infestée, et le paludisme y sévissait à l'état hyperendémique. Sur la côte Est, où le paludisme était globalement mésoendémique, les estuaires bouchés pendant la saison sèche devenaient alors des gîtes très productifs en anophèles et la prévalence apparaissait ainsi paradoxalement significativement plus élevée en saison sèche qu'en saison des pluies. Dans les "Hauts", l'IP, bien que toujours inférieur à 15 %, était aussi plus élevé en saison sèche, où les citernes étaient les gîtes les plus productifs, qu'en saison des pluies où elles débordaient. Enfin, sur la côte Nord et au dessus de 500 mètres, la prévalence restait faible, liée à la rareté des gîtes quelle que soit la saison (Blanchy *et al.* 1999; Tchen *et al.* 2006). Ces variations saisonnières et géographiques n'influaient pas beaucoup sur l'acquisition rapide de la prémunition (Blanchy *et al.* 1999). Toutes ces données datent néanmoins quelque peu, et il est regrettable qu'aucune étude de prévalence n'ait semble-t-il été conduite plus récemment à Anjouan.

Sur l'île de **Mohéli**, le paludisme est méso- voire hyperendémique suivant la pluviométrie et l'altitude qui ne dépasse guère 700 m, et l'acquisition de la prémunition est précoce. D'après les études de 1986-1988, l'IP était plus élevé en saison des pluies (de 9% à 50%) qu'en saison sèche (de 19 à 52,5%) (Blanchy *et al.* 1999). La situation géographique était alors globalement homogène sur l'île, du fait de sa faible altitude et des nombreux cours d'eau permanents dont les estuaires se bouchent en saison sèche. Néanmoins, dans les villages du tiers Sud-Est de l'île, moins arrosés, les IP étaient significativement plus bas (Blanchy *et al.* 1999; Tchen *et al.* 2006).

En novembre 2006 puis septembre 2007, 2 nouvelles études de prévalence menées sur Mohéli par une équipe sino-comorienne sont heureusement venues rafraîchir ces données (Programme National de Lutte contre le Paludisme 2008). Les index plasmodiques globaux étaient alors respectivement de 21% et 23% et variaient de 5% à 94% selon les localités (Tableau 8). Comme en Grande Comore, la situation semble avoir évolué en 20 ans puisqu'à

cette période de l'année, les localités les plus infestées (IP entre 30% et 94%) étaient situées dans le Sud-Est et le Sud de l'île, et les moins infestées dans la moitié Nord de l'île (IP < 20%). Le lancement sur l'île de Mohéli d'un programme d'élimination du paludisme en novembre 2007, mené par les autorités sanitaires locales et en coopération avec une équipe de l'Université de Médecine Traditionnelle Chinoise de Guangzhou, est venu bouleverser cette situation. Le programme reposait sur un traitement de masse par l'ACT Artequick® (dihydroartémisinine-pipéraquline) pendant 2 jours puis de nouveau 40j plus tard, associé à une prévention par primaquine tous les 10j pendant 4 mois. Un traitement systématique de toutes les personnes débarquant sur l'île est également toujours pratiqué dans la mesure du possible. Le taux de couverture de ce traitement de masse a été de près de 90% et les premiers résultats ont montré une diminution radicale de la prévalence de la maladie, y compris dans les localités les plus touchées. L'IP global est ainsi passé de 23% à 1,4% à 60 jours, et à 0,33% à 110 jours, soit une baisse de 98,7% (données PNLP, non publiées). Nous ne disposons malheureusement pas de chiffres plus récents, 1 an et demi après le lancement du programme. Un ambitieux et indispensable projet de lutte anti-vectorielle reposant notamment sur la distribution généralisée de moustiquaires imprégnées et la pulvérisation intra-domiciliaire d'insecticide est finalement envisagé en complément. Le succès à moyen et long terme de ce traitement de masse demeure encore hypothétique étant donné les voyages fréquents et difficilement contrôlables des Comoriens entre les différentes îles. A l'instar de la situation à Mayotte, le risque de survenue d'épidémies sur une population perdant peu à peu sa prémunition doit conduire à la vigilance, à la prise en charge rapide de tous les cas et à la surveillance régulière et rapprochée de l'épidémiologie du paludisme sur l'île.

A **Mayotte**, le programme de lutte intégrée associant notamment chimioprophylaxie de masse et pulvérisations intra-domiciliaires trimestrielles instaurées en 1978 a permis de faire passer la prévalence des accès palustres de plus de 20% à moins de 1% dans les années 1980 (Blanchy *et al.* 1999) (Tableau 8). La situation est depuis stable, le paludisme demeurant installé à l'état endémique, malgré les flambées épidémiques de 1984, 1987, 1991 et 1995 du fait de la baisse très importante de la prémunition de la population (Quatresous *et al.* 2005). Alors que le recensement des cas est relativement exhaustif depuis 2001 à Mayotte, la dernière estimation de la prévalence sur l'île remonte à 1996. L'index plasmodique avait alors été mesuré à 1,3% sur une population d'enfants scolarisés (Julvez *et al.* 1997).

**Tableau 9A – Chimiosensibilité de *P. falciparum* aux Comores :  
Efficacité thérapeutique *in vivo***

Molécule *	Année	Ile <sup>&amp;</sup>	Résultats	Remarques	Ref
CQ	1980	GC ou MAY	1er cas de type RI	Séjour à MAY, GC et Kenya	(Eichenlaub et Pohle 1980)
CQ	1985-87	MAY	RI/RII = 14,7% RI=4 cas, RII=1 cas	34 patients ; CQ 25 mg/kg en 3j ; suivi J28	(Julvez et Galtier 1989)
CQ	1988-89	GC (et MOH)	R2/3 = 1,35%	74 patients ; CQ 25 mg/kg en 3j ; suivi J7	(Blanchy et Benthein 1989)
CQ	1991	ANJ	R2/3 = 22,2%	27 patients ; CQ 25 mg/kg en 3j ; suivi J7	(Feillet <i>et al.</i> 1993)
CQ	1997-2001	UdC	Echecs totaux = 57,1%	Suivi J14	(World Health Organization 2005)
CQ	2001	GC	Echecs totaux = 40%	73 patients ; durée suivi ?	(Ariey <i>et al.</i> 2002)
CQ	2001	GC	Echecs totaux = 76,6%	30 patients ; suivi J14	(Randrianarivojia <i>et al.</i> 2004)
CQ	2001	GC, ANJ, MOH	Echecs totaux : GC = 69% ; ANJ = 72% ; MOH = 65%	GC=52 patients, MO=57 patients, AN=75 patients ; suivi J14	(Silai <i>et al.</i> 2007)
CQ	2002	MAY	Echec thérapeutique précoce = 40,2%	82 patients ; suivi J7	(Lepere et Macarry 2004)
P-S	2003-4	MAY	Rechutes = 6-10%	Pas de contrôle de réinfestation	(Quatresous <i>et al.</i> 2005)
P-S	2004	UdC	Echec clinique = 1,5%	Suivi J14	(World Health Organization 2005)
P-S	2006	UdC	Echecs totaux = 0-10%		Données Silai, non publiées
CQ+P-S	2002	MAY	Echecs totaux = 16%	82 patients	(Tall <i>et al.</i> 2002)
CQ+P-S	2002	MAY	Echec thérapeutique précoce = 1,8%	337 patients ; suivi J7	(Lepere et Macarry 2004)
CQ+P-S	2003	UdC	Echec clinique = 0%	Suivi J14	(World Health Organization 2005)
CQ+P-S	2003	GC, ANJ, MOH	Echec parasitologique tardif = 2%	51 patients ; suivi J14	(Tall <i>et al.</i> 2007)
CQ+P-S	2005	MAY	Echec parasitologique tardif = 2,8%	41 patients ; suivi J28	Données Lepère JF non publiées
AM+L	2002	MAY	Echec = 0%	51 patients ; suivi J21	(Tall <i>et al.</i> 2004)
AM+L	2004	UdC	Echec clinique = 0%	Suivi J14	(World Health Organization 2005)
AM+L	2004	GC, ANJ, MOH	Echecs totaux = 0,6%	GC=55 patients, MO=58 patients, AN=51 patients ; suivi J28 ; contrôle des échecs par PCR	(Silai <i>et al.</i> 2007)
AS+AQ	2004	UdC	Echec clinique = 0%	Suivi J14	(World Health Organization 2005)
AS+AQ	2003	GC, ANJ, MOH	Echec = 0%	54 patients ; suivi J14 ; ajustement des rechutes par PCR	(Tall <i>et al.</i> 2007)
AS+S-P	2003	UdC	Echec clinique = 0%	Suivi J14	(World Health Organization 2005)
AS+S-P	2003	GC, ANJ, MOH	Echec = 0%	53 patients ; suivi J14	(Tall <i>et al.</i> 2007)

\* AM=arthémether, AQ=amodiaquine, AS=artésunate, CQ=chloroquine, P=pyriméthamine, S=sulfadoxine

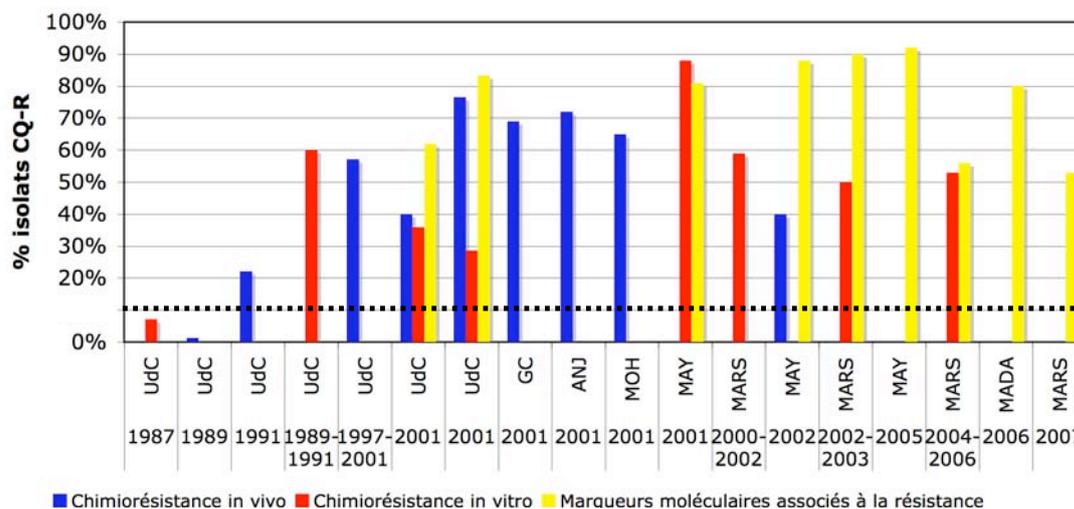
& UdC=Union des Comores (=GC et/ou ANJ et/ou MOH) ; GC=Grande Comore ; ANJ=Anjouan ; MOH=Mohéli ; MAY=Mayotte ; MARS=Marseille

### 3.6 CHIMIORESISTANCE DE *PLASMODIUM FALCIPARUM*

Les résultats des différentes études de chimiorésistance du *Plasmodium falciparum* au Comores disponibles dans la littérature sont synthétisés dans les Tableaux 9A (efficacité thérapeutique *in vivo*), 9B (chimiosensibilité *in vitro* en culture) et 9C (marqueurs moléculaires associés aux résistances), ainsi que sur la Figure 8.

**Figure 8 - Etudes de chloroquino-résistance du *P. falciparum* aux Comores**

GC=Grande Comore, ANJ=Anjouan, MOH=Mohéli, MAY=Mayotte, MARS=Marseille (importation), MADA=Madagascar (importation),



Sur la période de quasiment 30 ans que couvre cette synthèse, ces études apparaissent relativement erratiques, possiblement du fait des difficultés politiques et structurelles qu'a connues l'Union des Comores ces dernières décennies. L'identité du site étudié est souvent non précisée, et rares sont les études multi-sites permettant une comparaison des niveaux de chimiorésistance entre les îles à une période donnée. Bien que la chloroquine soit la molécule antipaludique la plus étudiée, la revue aussi exhaustive que possible des études qui lui sont consacrées illustre bien cette carence globale de surveillance, du moins jusqu'en 2001 environ (Fig. 8). De plus, les niveaux de chloroquinorésistance présentent d'importantes discordances, que ce soit entre les méthodes d'étude choisies (*in vivo*, *in vitro* et moléculaire), entre les résultats disponibles pour une même méthode et une même période d'étude, ou dans leur évolution temporelle. Ces discordances doivent de principe faire discuter la qualité des études recensées, notamment *in vitro* et moléculaires, pour lesquelles l'absence de standardisation est un facteur limitant les possibilités de comparaison. Ces discordances pourraient également

**Tableau 9B – Chimiosensibilité de *P. falciparum* aux Comores :  
Etudes de résistance *in vitro* en culture**

Molécule*	Année	Ile <sup>&amp;</sup>	Résultats <sup>S</sup>	Remarques	Ref
CQ	1987	UdC	CQ-R = 1/14 (7,1%)	CI50>100nM	(Le Bras <i>et al.</i> 1987)
CQ	1989-91	UdC	CQ-R = 15/25 (60%)	CI50>100nM	(Rabenjarson <i>et al.</i> 1992)
CQ	2001	GC	CQ-R = 36%	Microtest isotypique ; CI50 <sub>≥</sub> 100nM ; 25 souches	(Ariey <i>et al.</i> 2002)
CQ	2000-1	GC	CQ-R 8/28 (28,6%)	Microtest isotypique CI50 <sub>≥</sub> 120nM Moyenne = 207,8	(Randrianarivoelo sia <i>et al.</i> 2003)
CQ, AQ, QN, MQ, P, AM	2000-1	MAY	CQ-R=88%; AQ-R=24%; QN-R=17%; MQ-R=9%; P-R=99%; AM-R=4%	DELI ; CI50 <sub>CQ</sub> >100nM, CI50 <sub>QN</sub> >500nM, CI50 <sub>MQ</sub> >30nM, CI50 <sub>P</sub> >2000nM, CI50 <sub>AQ</sub> >70nM, CI50 <sub>A</sub> >10nM ; 132 souches	(Pettinelli <i>et al.</i> 2004)
AQ, QN, MQ	1987	UdC	Sensibles		(Le Bras <i>et al.</i> 1987)
QN, MQ, CG	2001	GC	Sensibles	Microtest isotypique ; CI50 <sub>QN</sub> >800nM, CI50 <sub>MQ</sub> >50nM, CI50 <sub>CG</sub> >500nM ; 29 souches	(Randrianarivoelo sia <i>et al.</i> 2004)
CQ, QN, MQ, H, P, CG, Ato	2000-2	MARS	CQ-R=59%; QN-R=0%; MQ-R=7%; H-R=0%; P-R=50%; CG-R=50%; Ato-R=19%	Microtests isotypiques ; CI50 <sub>CQ</sub> >100nM, CI50 <sub>MQ</sub> >30nM, CI50 <sub>P</sub> >2000nM, CI50 <sub>CG</sub> >500nM, CI50 <sub>Ato</sub> >6nM ; 27 souches d'importation	(Parola <i>et al.</i> 2004)
CQ, QN, MQ, H, P, CG, AM, Ato	2002-3	MARS	CQ-R=50%; QN-R=50%; MQ-R=7%; H-R=50%; P-R=50%; CG-R=40%; AM-R=0%; Ato-R=25%	Microtests isotypiques ; CI50 non mentionnées 23 souches d'importation	(Parola <i>et al.</i> 2005)
CQ, AQ, QN, MQ, H, L, CG, DA, Ato, Do	2004-6	MARS	CQ-R=53%; AQ-R=7%; QN-R=3%; MQ-R=3%; H-R=1%; L-R=0%; CG-R=15%; DA-R=1%; Ato-R=3%; Do-R=ND	Microtest isotypique ; CI50 <sub>CQ</sub> >100nM, CI50 <sub>AQ</sub> >60nM, CI50 <sub>QN</sub> >800nM, CI50 <sub>MQ</sub> >30nM, CI50 <sub>H</sub> >6nM, CI50 <sub>L</sub> >150nM, CI50 <sub>CG</sub> >500nM, CI50 <sub>DA</sub> >10,5nM, CI50 <sub>Ato</sub> >30nM ; 126 souches d'importation ; % de résistance ou de sensibilité diminuée	(Parola <i>et al.</i> 2007)

\* AM=arthémether, Ato=atovaquone, AQ=amodiaquine, AS=artésunate, CG=cycloguanil, CQ=chloroquine, Do=Doxycline,

DA=dihydroartémisinine, H=Halofantrine, L=luméfántrine, MQ=méfloquine, QN=quinine, P=pyriméthamine

<sup>&</sup> UdC=Union des Comores ; GC=Grande Comore ; AN=Anjouan ; MO=Mohéli ; MAY=Mayotte ; MARS=Marseille

<sup>S</sup> -I = intermédiaire, -R = résistant, -S = sensible

CI50 : seuil de concentration inhibitrices 50% choisi pour la molécule testée

être le reflet de niveaux de chimiorésistance géographiquement très contrastés au sein d'une même île.

**Tableau 9C – Chimiosensibilité de *P. falciparum* aux Comores : Marqueurs moléculaires**

Gène*	Année	Ile <sup>&amp;</sup>	Résultats	Remarques	Ref
Pfcr1 (76)	2001	GC	Mutant K76T = 62%	48 isolats; RFLP+séquençage	(Ariey <i>et al.</i> 2002)
Pfcr1 (76)	2001	GC	Mutant K76T = 83,3%	30 isolats Nested-PCR + RFLP	(Randrianarivelosia <i>et al.</i> 2004)
Pfmdr1 (86) Pfdhfr (108)			Mutant 86Y = 100% Mutant 108N = 50%		
Pfdhfr (108)	?	UdC	Mutant 108N = 55%		(Randrianarivelosia <i>et al.</i> 2003)
Pfdhfr (108)	2000-1	MAY	Mutant 108N = 62%	40 isolats ; RFLP	(Pettinelli <i>et al.</i> 2004)
Pfcr1 (76) Pfdhfr (51,59,108)	2001	MAY	Mutants K76T = 81% Simples mutants = 6% Triples mutants = 41%	32 isolats	(Roussin <i>et al.</i> 2002)
Pfdhps (436,437)			Mutants = 0		
Pfcr1 (76)	2002	MAY	Mutants K76T = 88%	50 isolats	(Tall <i>et al.</i> 2002)
Pfcr1 (76) Pfdhfr (51,59,108)	2002-3	MARS	Mutants K76T = 90% Mutant 108N = 69% Triples mutants = 54%	20 isolats 48 isolats	(Parola, Pradines <i>et al.</i> 2005)
Pfcr1 (76) Pfdhfr (51,59,108)	2005	MAY	Mutants K76T = 92% Triples mutants = 35%	88 isolats	(Quatresous <i>et al.</i> 2007)
Pfcr1 (76) Pfdhfr (51,59,108)	2004-6	MARS	Mutants K76T = 56% Mutant 108N = 58% Triples mutants = 53%	203 isolats 203 isolats	(Parola <i>et al.</i> 2007)
Pfdhps (436,437)			Mutant A437G = 7% <i>dhfr</i> :108+ <i>dhps</i> 437 = 5%	120 isolats	
Pfcy2b (268)			Mutant 268 = 0	203 isolats	
Pfdhfr (51,59,108)	2006	MAY	Triples mutants = 74%	105 isolats	(Quatresous <i>et al.</i> 2007)
Pfdhfr (51,59,108)	2006	MAY	Triples mutants = 62%	149 isolats	(Quatresous <i>et al.</i> 2007)
Pfcr1 (76) Pfdhfr (108) Pfmdr1 (86)	2006	MADA	Mutant K76T = 80,1% Mutant 108Y = 95,0% Mutant 86Y = 99,3%	PCR + RFLP 141 isolats	(Menard <i>et al.</i> 2007)
Pfcr1 (76) Pfdhfr (51,59,108)	2007	MARS	Mutant K76T = 52,7% Mutant 108N = 74% Triples mutants = 54%	112 isolats	(CNR paludisme, non publié)

\* pour la signification des mutations recherchées, voir le Tableau 5

<sup>&</sup> UdC=Union des Comores ; GC=Grande Comore ; AN=Anjouan ; MO=Mohéli ; MAY=Mayotte ; MARS=Marseille (importation) ; MADA=Madagascar (importation)

Depuis les premier cas de résistance notés sur l'archipel au début des années 1980, on assiste néanmoins à une inexorable et progressive montée en puissance des niveaux de chloroquinorésistance aux Comores. Le seuil de 10% apparaît ainsi dépassé depuis longtemps,

et plus de 50% des isolats sont résistants d'après les dernières études, quelque soit la méthode utilisée (Fig. 8). Les signes de résistance *in vitro* et moléculaire à la pyriméthamine (composant essentiel du Fansidar<sup>®</sup>) ont également atteint des niveaux inquiétants ces dernières années (Tableaux 9B et 9C). L'une comme l'autre ont été le fruit de la sélection progressive de souches parasitaires mutées arrivées d'Asie par une pression médicamenteuse massive et incontrôlée du fait de la facilité d'utilisation, du faible coût et de la large distribution de ces médicaments. La possibilité d'une résistance au Fansidar<sup>®</sup> induite de manière croisée par l'utilisation importante du cotrimoxazole (triméthoprim-sulfaméthoxazole, Bactrim<sup>®</sup>), une association antibiotique à large spectre de la même famille moléculaire, a également été évoquée par plusieurs auteurs (Anglaret 2001; Whitty et Jaffar 2002) et pourrait avoir joué un rôle aux Comores (Pettinelli *et al.* 2004). Mais cette hypothèse attrayante demeure cependant pour l'instant non confirmée (Malamba *et al.* 2006).

Dans ce contexte les autorités sanitaires de l'Union des Comores et de Mayotte ont fini par bannir l'usage de la chloroquine en première intention dans le traitement des accès non compliqués à *P. falciparum*, la remplaçant dans un premier temps à Mayotte par l'association chloroquine-Fansidar<sup>®</sup> (CQ + P-S), puis surtout par les ACT (thérapies combinées à base de dérivés de l'artémisinine, en l'occurrence artémether-luméfantine). Il n'a pas été retrouvé pour l'instant sur l'archipel de signe évoquant une résistance à cette association prometteuse. La diminution récente de l'efficacité de certains ACT dans le Sud-Est asiatique incite néanmoins à la vigilance. Nul doute que l'intensification et la rationalisation de la surveillance de la chimiorésistance du *P. falciparum* sur l'archipel devront être à l'avenir le corollaire indispensable à l'introduction de ces ACT, et un complément essentiel aux autres mesures de lutte antipaludique.

### **3.7 CONCLUSION : VERS UNE NOUVELLE EPIDEMIOLOGIE DU PALUDISME AUX COMORES ?**

Malgré la proximité des 4 îles comoriennes, l'épidémiologie du paludisme, principalement du à *Plasmodium falciparum*, semble donc en réalité très variable au sein de l'archipel, et ce depuis les premiers témoignages historiques. La transmission y est globalement stable, mais très contrastée, car elle dépend de nombreux et complexes facteurs, naturels ou anthropiques (citernes etc...), dont la distribution géographique est hétérogène entre les îles et sur chacune d'elles. L'incidence de la maladie reste ainsi un problème majeur de santé publique en Union des Comores où le paludisme sévit à l'état mésoendémique

à hyperendémique, et l'abandon des citernes à la faveur de l'adduction d'eau pourrait vraisemblablement constituer un moyen de limiter cette morbidité, en Grande Comore notamment. A Mayotte en revanche, les efforts de lutte intégrée de ces dernières décennies ont dessiné une situation d'hypoendémicité globale, associée à un important foyer résiduel à Bandraboua et à la menace jamais écartée de flambées épidémiques. L'ensemble de l'archipel est en outre le siège d'un niveau important de résistance à la chloroquine et à la pyriméthamine (composant essentiel du Fansidar<sup>®</sup>) qui ont conduit les autorités sanitaires à recommander en première intention l'usage des ACT dans le traitement des accès palustres non compliqués à *P. falciparum*.

Dans ce contexte, un nouveau paysage épidémiologique se dessine sur l'archipel. L'incidence a ainsi très nettement diminué ces dernières années à Mayotte. Et les effets du recours de plus en plus fréquent aux ACT (Coartem<sup>®</sup>) en Union des Comores devrait bientôt se faire sentir en terme d'incidence. Le nombre décroissant des accès palustres importés à Marseille ces dernières années (données CNR-palu, non publiées) en est peut-être une manifestation lointaine. Sur Mohéli, le programme sino-comorien d'élimination du paludisme par traitement de masse de la population instauré fin 2007 a fait drastiquement chuter la prévalence de la maladie. Et certains envisagent d'ors et déjà d'en étendre l'expérience sur Grande Comore et sur Anjouan. Le soutien financier récemment accordé par le Global Fund (dans le cadre du *Round 8*), devrait permettre de renforcer la disponibilité et l'accessibilité des ACT, ainsi que le taux d'administration aux femmes enceintes du traitement préventif intermittent par Fansidar<sup>®</sup>. L'expansion de la distribution des moustiquaires imprégnées d'insecticides longue durée est également prévue. Et un programme de pulvérisation intra-domiciliaire d'insecticides devrait être mis en place sur Mohéli afin d'y consolider les effets du traitement de masse et d'y prévenir la survenue de flambées épidémiques.

Nul doute que sous l'impulsion conjointe de ces divers efforts de lutte antipaludique, l'épidémiologie du paludisme sur l'archipel des Comores devrait évoluer rapidement dans les années à venir. Et il serait bien hasardeux de ne pas accompagner ces initiatives d'une surveillance adéquate des évolutions qu'elles impulsent. Ceci devrait impliquer un renforcement et une organisation plus systématique des études entomologiques, de prévalence, de morbidité et de chimiosensibilité. Le développement récent de nouvelles méthodes d'épidémiologie moléculaire permettant d'apprécier la dynamique des populations parasitaires pourrait également apporter une compréhension supplémentaire des processus épidémiologiques du paludisme sur l'archipel, et ainsi guider au mieux les choix stratégiques à venir. C'est une étude de ce type qui est présentée dans la Partie 4 du présent travail.

## **4 ETUDE DE LA DIVERSITE GENETIQUE ET DE LA STRUCTURATION DES POPULATIONS DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* DANS L'ARCHIPEL DES COMORES**

La présente étude de génétique parasitaire a été réalisée en 2008 et 2009 au laboratoire du l'IMTSSA (Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées) au Pharo sous la direction de Christophe Rogier et de Philippe Parola, sous l'encadrement de Hervé Bogreau, et à partir d'isolats fournis en 2007 par le PNLP Comores, le centre de santé de Bandraboua à Mayotte et le CNR-Paludisme du Pharo, Marseille. Ses résultats principaux et leurs implications pour la lutte anti-paludique ont été exposés aux partenaires comoriens sur place en septembre 2008. Ils feront prochainement l'objet d'un article soumis pour publication dans une revue internationale.

### **4.1 INTRODUCTION ET RAPPELS**

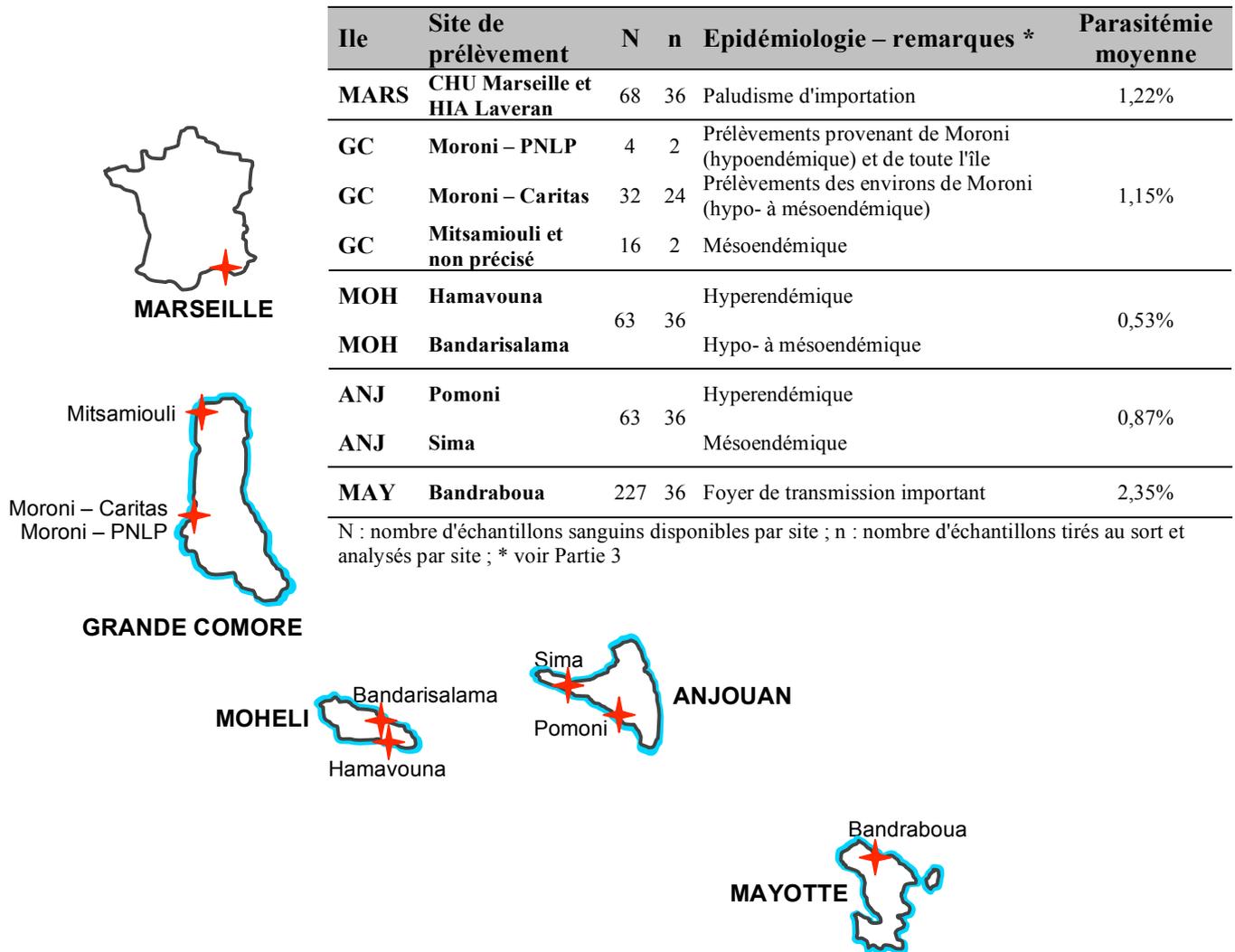
Nous l'avons vu, le paludisme, principalement à *Plasmodium falciparum*, représente un important problème de santé publique sur l'archipel des Comores, à la fois en Union des Comores, où l'incidence annuelle est de l'ordre de 100 cas pour 1000 habitants, et à Mayotte où la maladie, qui persiste à l'état endémique sur toute l'île, sévit de manière plus intense dans le foyer de Bandraboua et se manifeste par des flambées épidémiques occasionnelles (Partie 3). L'expansion de souches de *P. falciparum* résistantes à la chloroquine et à la pyriméthamine (contenue dans le Fansidar®) a conduit ces dernières années les autorités sanitaires comoriennes et françaises à introduire un ACT (artémether + luméfántrine) en première intention dans le traitement des accès non compliqués à *P. falciparum*, et à renforcer l'ensemble des moyens de lutte antipaludique, dont une surveillance épidémiologique optimale, indispensable pour éviter de reproduire les erreurs du passé. Or, pour un ensemble de raisons politiques, économiques et structurelles, cette surveillance est demeurée irrégulière et inégalement répartie au sein de l'archipel, et les différentes études de chimiorésistance disponibles ont offert des résultats souvent discordants (Partie 3). Dans ce contexte, la ville de Marseille, où vit une importante communauté comorienne (2.1.3) à l'origine de plusieurs

centaines de cas importés de paludisme par an, a récemment été proposée comme un site sentinelle pertinent pour la surveillance du paludisme comorien (Parola *et al.* 2004; Parola *et al.* 2007). Mais, l'extrapolation de ces données marseillaises à l'ensemble de l'archipel pourrait être hasardeuse et n'a en tout cas jamais fait l'objet d'une étude adaptée. Par ailleurs, une tentative contestée d'élimination du paludisme sur la seule île de Mohéli a été lancée fin 2007 au moyen d'un traitement de masse de la population. Les premiers résultats sont certes encourageants mais en raison des voyages inter-îles continuels de la population comorienne, et à l'instar de l'échec passé d'élimination du paludisme sur l'île tanzanienne de Zanzibar (Roll Back Malaria 2008) vers laquelle les mouvements migratoires saisonniers étaient importants (Prothero 1961), on peut s'interroger sur l'efficacité à moyen et long terme d'une initiative aussi isolée.

C'est en effet via les flux de populations humaines entre des zones voisines que s'effectuent les échanges de souches parasitaires et donc d'allèles (voir Partie 2.3.5) (Rogier *et al.* 2005; Bogreau *et al.* 2006), et diverses études ont à présent montré que les populations de *P. falciparum* sont en réalité plus ou moins génétiquement hétérogènes au sein des zones d'endémies. Des niveaux variés de transmission et d'isolement géographique peuvent ainsi dessiner une structuration génétique (Anderson *et al.* 2000; Bogreau *et al.* 2006), dont l'importance au sein d'archipels endémiques pour le paludisme comme celui des Comores demeure très mal connue. En conséquence, et comme cela a déjà été proposé pour l'île de Bornéo (Anthony *et al.* 2005), une meilleure connaissance de la diversité génétique et de la structuration des population de *P. falciparum* sur l'archipel des Comores serait d'un grand intérêt pour interpréter et extrapoler les données de chimiorésistance, ajuster les politiques de surveillance et de lutte antipaludique, prédire les chances de succès à moyen et long terme de l'essai d'élimination mené à Mohéli, mieux comprendre la persistance du paludisme à Mayotte, ou encore évaluer la pertinence d'une surveillance de la chimiorésistance excentrée à Marseille.

Etudier la diversité génétique et la structuration des populations de *P. falciparum* requiert l'utilisation de marqueurs génétiques sélectivement neutres (Partie 2.3.5), c'est à dire non soumis aux pressions de sélection, qu'elles soient médicamenteuses ou immunes. Les microsatellites sont ainsi devenus les marqueurs de prédilection, à condition qu'ils soient choisis suffisamment à distance des loci associés notamment à la chimiorésistance ou aux antigènes de surface (Anderson *et al.* 2000; Bogreau *et al.* 2006).

**Figure 9 – Origine des échantillons sanguins étudiés**



L'objectif principal de l'étude présentée ici est par conséquent de déterminer l'hétérogénéité génétique des populations de *Plasmodium falciparum* au sein de l'archipel des Comores et d'en expliquer l'origine afin d'y optimiser les moyens de lutte et de surveillance du paludisme et de mieux interpréter les données actuelles d'épidémiologie moléculaire sur les résistances aux antipaludiques. Son objectif secondaire est de mesurer la dissemblance génétique entre d'une part les populations plasmodiales circulant dans l'archipel et d'autre part la population importée à Marseille, afin de discuter le choix de Marseille comme site sentinelle dans la surveillance des populations plasmodiales comoriennes.

Les populations de *P. falciparum* de chacune des 4 îles et de Marseille ont ainsi été caractérisées par génotypage de plusieurs microsatellites. Et le polymorphisme génétique de 3 gènes impliqués dans la résistance (1) à la chloroquine (gène *Pfcr1*) (Djimde *et al.* 2001; World Health Organization 2005), (2) à la pyriméthamine et au cycloguanil (gène *Pfdhfr*) (Kublin *et al.* 2002; World Health Organization 2005), et (3) à la sulfadoxine (gène *Pfdhps*) (Kublin *et al.* 2002; World Health Organization 2005) a également été étudié. En complément, des données épidémiologiques concernant les flux de personnes entre les îles et la pression médicamenteuse ont été recueillies pour chacun des patients échantillonnés, mais également dans la littérature (Partie 3) et à l'occasion d'une enquête menée sur place.

## 4.2 MATERIELS ET METHODES

### 4.2.1 Echantillons de *Plasmodium falciparum*

L'étude a été réalisée en 2007 pour chacune des 4 îles de l'archipel des Comores (Grande Comore (GC), Mohéli (MOH), Anjouan (ANJ) et Mayotte (MAY)), et pour Marseille (MARS). Les échantillons sanguins ont été prélevés, après consentement éclairé, auprès de patients venus consulter pour accès palustre clinique dans différents dispensaires aux Comores ou aux urgences de différents hôpitaux marseillais. Une autorisation préalable avait été obtenue d'un comité d'éthique à Marseille et du Ministère de la Santé des Comores. Chaque échantillon sanguin a été recueilli sur papier filtre absorbant de type Whatman FTA Elute<sup>®</sup> (Whatman Inc., Florham Park, USA) (GC, ANJ et MOH) (Annexe 1), ou de type Whatman 903 Protein Saver<sup>®</sup> (MAY), ou dans des tubes sanguins Vacutainer (MARS). Tous ont ensuite été conservés à -20°C.

Les échantillons ont été collectés en Union des Comores en fin de saison des pluies avec l'aide du PNLP (*Programme National de Lutte contre le Paludisme*). Soixante-quatre

échantillons ont été recueillis en GC, principalement à Moroni (Fig. 9). Le paludisme sévit sur l'île à l'état méso- à hyperendémique, avec une variation saisonnière faible du fait des nombreuses citernes et bassins d'ablution présents (Partie 3, Fig. 6). Soixante-trois échantillons ont été collectés dans des centres de santé de MOH, situés en zone méso- à hyperendémique. Soixante-trois échantillons également ont été collectés à ANJ au cours de la même période dans des centres de santé situés dans une région méso- à hyperendémique. Deux cent vingt-sept échantillons ont été prélevés au cours de l'année 2007 dans le centre de santé de la commune de Bandraboua, situé dans la zone la plus endémique de l'île de MAY. Et enfin 111 échantillons importés des Comores (quasiment exclusivement de Grande Comore) à Marseille ont été rassemblés en 2007 par le Centre National de Référence de la Région Sud pour la Chimiosensibilité du paludisme. Après élimination des échantillons avec renseignements manquants ou trop faible parasitémie, 36 échantillons ont été tirés au sort pour chacune des 5 "îles".

#### 4.2.2 Recueil d'informations épidémiologiques

Afin de mieux interpréter les données génétiques, chaque échantillon prélevé était accompagné d'une fiche de renseignement mentionnant la parasitémie de *P. falciparum* ainsi que des informations relatives au patient comme l'âge, le sexe, l'historique de ses séjours en dehors de l'île ou de l'archipel (au cours de l'année écoulée pour les échantillons d'Union des Comores, et au cours des 3 semaines précédentes pour ceux provenant de Mayotte), et l'historique des accès palustres récents et des traitements antipaludiques reçus (Annexe 1). Le village de résidence de chaque patient échantillonné sur la commune de Bandraboua a également été renseigné.

Les flux de personnes entre les îles pouvant être supposés d'autant plus intenses que les îles sont rapprochées, une mesure des distances les séparant les unes des autres a été réalisée sur le logiciel GOOGLE EARTH®.

Par ailleurs, aucune étude socio-démographique quantifiant les différents flux de personnes voyageant entre les îles n'ayant semble-t-il été menée jusqu'à présent, une enquête sur le terrain a été menée à l'occasion d'un séjour en Union des Comores en septembre 2008. Les Comoriens voyagent selon 3 modes entre les îles de l'archipel : par avion, bateau "officiel" et pirogue (les fameux *kwassa-kwassa*). Une collecte d'informations qualitatives et quantitatives concernant ces trajets en 2006 a donc été menée auprès de différents intervenants : Direction Générale de l'Aviation Civile de Grande Comore et d'Anjouan, Comores Aviation (principale compagnie aérienne intérieure de l'archipel), capitaineries des

ports de Moroni (GC) et de Mutsamudu (ANJ), et plusieurs pilotes de *kwassa-kwassa*. Pour Mayotte, des données issues de la préfecture concernant l'arrivée et la reconduite à la frontière de clandestins comoriens (Commission des Lois Constitutionnelles et de la Législation et de l'Administration Générale de la République Française 2006; Secrétariat Général du Comité Interministériel de Contrôle de l'Immigration 2007), et des données issues de la Direction Générale de l'Aviation Civile pour 2006 ont été prises en compte. La prévalence et l'incidence du paludisme dans les différentes îles (Partie 3), ainsi que le nombre d'habitants par île (Partie 2) ont également été recensés.

La fréquence des marqueurs de chimiorésistance dans une population plasmodiale dépend étroitement du niveau de pression médicamenteuse à laquelle cette population a été soumise. Un recueil des consommations d'antipaludiques sur chacune des îles de l'archipel a donc été entrepris au cours de cette même enquête de terrain. Les mouvements de stocks de la Pharmacie Nationale Autonome des Comores (PNAC) de Moroni (coopérative alimentant les Pharmacies Régionales (1 par île) auprès desquelles les pharmacies et dépôts de médicaments peuvent ensuite s'approvisionner en antipaludiques), et les registres des principales pharmacies de Moroni (GC) et de Mutsamudu (ANJ) ont donc été investigués. Des informations qualitatives de pression médicamenteuse comme la nature des protocoles thérapeutiques et les habitudes de prescription des médecins aux Comores des différentes îles ont également été collectées.

### 4.2.3 Procédures de génotypage

#### *Extraction de l'ADN*

L'ADN a été extrait des papiers filtres FTA Elute<sup>®</sup> et 903 Protein Saver<sup>®</sup> selon les recommandations du fabricant (Whatman Inc., Florham Par, USA). Pour le premier type de buvard, 1 disque de 1,2 mm a été perforé, puis l'ADN purifié a été élué dans 30 µL d'eau et congelé à -20°C. Pour le second type de buvard, 1 disque de 1,2 mm a été purifié avec le FTA<sup>®</sup> Purification Reagent, lavé, séché puis congelé. L'ADN des échantillons en tube a été extrait en utilisant le EZNA blood DNA kit<sup>®</sup> conformément aux recommandations du fabricant (Biofidal, Vaulx-en-Velin, France) et élué dans 100 µL d'eau pour 250 µL de sang total. Afin d'accroître la sensibilité des PCR à suivre et limiter le nombre d'extractions nécessaires au génotypage de tous les loci, une amplification pangénomique de l'ADN extrait a été réalisée en utilisant le kit illustra<sup>®</sup> GenomiPhi V2 DNA Amplification, conformément

aux recommandations du fabricant (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK). Les produits de GenomiPhi ont ensuite été dilués au 1/20<sup>e</sup> puis congelés à -20°C.

### ***Marqueurs moléculaires***

Le polymorphisme de 6 microsatellites préalablement décrits (Su et Wellems 1996; Anderson *et al.* 1999; Bogreau *et al.* 2006) a été analysé : Pf2689, 7A11, C4M79, Pf2802, TRAP and C4M69 (Tableau 10). Les marqueurs moléculaires de chimiorésistance étudiés ont été (Tableau 10) : mutation K76T du gène *Pfprt* (associé à la résistance à la chloroquine) (Djimde *et al.* 2001; World Health Organization 2005) ; les mutations ponctuelles des codons 108, 16, 51, 59 et 164 du gène *Pfdhfr*, et des codons 436, 437, 540, 581 et 613 du gène *Pfdhps* (associées à la résistance de *P. falciparum* respectivement à la pyriméthamine et au cycloguanil pour *Pfdhfr*, et à la sulfadoxine pour *Pfdhps*) (Kublin *et al.* 2002; World Health Organization 2005).

**Table 10 – Liste des marqueurs étudiés**

Nom du locus	Chromosome	Type du polymorphisme étudié
<b>Microsatellite Pf2689</b>	12	Longueur (nombre de paires de bases du microsatellite)
<b>Microsatellite 7A11</b>	7	
<b>Microsatellite C4M79</b>	3	
<b>Microsatellite Pf2802</b>	5	
<b>Microsatellite TRAP</b>	13	
<b>Microsatellite C4M69</b>	4	
<b>Gène <i>Pfprt</i> – mutation K76T</b> (chloroquine-resistance transporter)	7	Mutation ponctuelle
<b>Gène <i>Pfdhfr</i>– mutations S108N, N51I, C59R, A16V et I164L</b> (dihydrofolate reductase)	4	Mutations ponctuelles
<b>Gène <i>Pfdhps</i>– mutations A437G, K540E, S436A, A581G et A613T/S</b> (dihydropteroate synthase)	8	Mutations ponctuelles

### ***Génotypage des microsatellites par polymérase chain réaction (PCR)***

Les loci microsatellites ont été amplifiés par PCR nichée avec des amorces fluorescentes se fixant sur des séquences adjacentes (Annexe 2A). Ces amorces avaient été synthétisées et purifiées dans le laboratoire de production d'amorce de l'Institut de Médecine Tropicale (Marseille, France), ou bien obtenues auprès d'Eurogenetec (San Diego, USA). Les conditions des 2 PCR sont résumées dans l'Annexe 2A. Les produits de PCR fluoro-marqués issus de la réaction n°2 ont ensuite été soumis à une électrophorèse sur gel de

polyacrylamide sur séquenceur capillaire ABI 3130XL avec 0,5 µL de marqueurs de taille Genescan<sup>®</sup>-500 LIZ<sup>®</sup> (Applied Biosystems, Foster City, CA) et 20 µL de HiDi Formamide. Et la longueur de ces microsatellites a été analysée en utilisant le logiciel GENESCAN<sup>®</sup> (Applied Biosystems).

### ***Génotypage de Pfcrt***

La mutation K76T de *Pfcrt* a été génotypée en utilisant une simple méthode de RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) avec détection des produits fluorescents sur un séquenceur capillaire ABI 3130XL, comme décrit précédemment (Anderson *et al.* 2003). Une section de 132 pb de *Pfcrt* a dans un premier temps été amplifiée par PCR semi-nichée avec des amorces fluoro-marquées. Les amorces et les conditions de PCR sont résumées dans l'Annexe 2B. Les produits fluoro-marqués issus de la seconde PCR (n°2) ont ensuite été digérés pendant 3 heures avec l'enzyme *ApoI* (New England Biolabs) (Annexe 1B). Les produits digérés ont alors été chargés sur le séquenceur capillaire et analysés par électrophorèse avec le marqueur de taille Genescan<sup>®</sup>-120 LIZ<sup>®</sup> (Applied Biosystems, Foster City, CA). L'allèle résistant (mutation K76T) était non coupé, donnant un pic à 132 pb, tandis que l'allèle sauvage était coupé, donnant un fragment marqué de 101 pb.

### ***Génotypage de Pfdhps et de Pfdhfr***

le génotypage de *Pfdhfr* et *Pfdhps* a été réalisé selon une méthode d'élongation d'amorce précédemment décrite (Nair *et al.* 2002). Une amplification initiale par PCR nichée a été suivie d'une digestion des amorces en excès et des nucléotides non incorporés. La réaction d'élongation d'amorce a ensuite été réalisée, en utilisant des oligos s'hybridant chacun de manière à ce que leur base 3' soit adjacente à l'une des bases polymorphes du gène (Annexes 2C), et le ABI PRISM SNaPShot<sup>®</sup> Multiplex Kit (Applied Biosystems) qui contient chacun des quatre didéoxynucléotides (ddNTP) marqué d'une couleur différente de fluorescence. Une seconde digestion a été effectuée pour les ddNTP en excès. Les oligos fluoromarkés issus de la réaction SNaPShot ont ensuite été électrophorésés sur le séquenceur capillaire ABI 3130XL comme décrit précédemment, avec le marqueur de taille Genescan<sup>®</sup>-120 LIZ<sup>®</sup> (Applied Biosystems). Chaque type d'oligo avait été prévu de manière à être différencié des autres par sa taille, et le type de fluorescence déterminait ainsi une mutation particulière.

#### 4.2.4 Analyses statistiques

##### *Multiplicité des populations de P. falciparum*

Les échantillons sanguins peuvent contenir un ou plusieurs clones haploïdes de *P. falciparum*. Et l'étude de la multiplicité des infections dans une population présente l'intérêt de pouvoir estimer les possibilités de recombinaisons (Partie 2.3.5) qui permettent de créer de nouveaux génotypes et ainsi par exemple de casser les associations chez les clones multirésistants.

La multiplicité de l'infection à *P. falciparum* (c'est à dire le nombre de parasites génétiquement distinguables par des allèles différents) a donc été estimée pour chaque échantillon à partir du nombre maximal d'allèles observés pour les 6 microsatellites. Et la multiplicité moyenne de chaque population (GC, MOH, ANJ, MAY et MARS) a ainsi été calculée (moyenne de la multiplicité des 36 échantillons). Une comparaison entre les sites a été réalisée en utilisant le U test de Mann & Whitney.

En cas de multi-infection, plus d'un allèle peut être distingué sur chaque locus et il est alors généralement impossible de déterminer le génotype complet de chaque clone. Néanmoins, lorsque plusieurs allèles sont observés sur un seul locus, tandis que les autres loci présentent tous le même allèle, il devient possible de reconstruire les génotypes complets de plusieurs loci (*reconstructed multilocus genotypes*). Par exemple, si le locus polymorphe présente N allèles, on peut alors reconstruire N génotypes complets. Il est par ailleurs possible de déterminer le clone majoritaire de chaque échantillon à partir de l'intensité des pics des différents allèles à l'électrophorégramme. Les analyses présentées ci-après ont ainsi été réalisées selon les cas en considérant soit (1) les génotypes reconstruits avec élimination des échantillons pour lesquels la reconstruction était impossible (plus d'un allèle à plus de 1 locus avec intensités équivoques des pics) et avec élimination (nombre de parasites considérés = 170) ou non (N=274) des échantillons pour lesquels le génotypage n'a pu être complet, soit (2) les clones majoritaires après élimination (N=149) ou non (N=180) des échantillons pour lesquels le génotypage n'a pu être complet, soit (3) les données brutes (nombre total d'individus détectés = 281).

##### *Diversité génétique*

La diversité génétique des 5 populations de *P. falciparum* a été estimée par le nombre d'allèle par locus, et par l'indice de Nei d'hétérozygotie attendue sans biais calculé à partir des fréquences alléliques des données brutes sur le logiciel GENETIX<sup>®</sup> version 4.05 (Nei 1978).

Cet indice  $H_e$  correspond en fait à la probabilité de tirer au sort, dans une population, 2 parasites différents pour les microsatellites considérés. La comparaison entre les  $H_e$  des différentes populations a été réalisée avec le logiciel FSTAT<sup>®</sup> version 2.9.4, par un test de comparaison bilatérale avec 1000 permutations (Goudet 2002).

### ***Dérive génétique et bottleneck récent***

La dérive génétique est un phénomène induisant progressivement l'élimination des allèles minoritaires et la fixation des allèles majoritaires dans une population. En situation d'équilibre, les mutations compensent néanmoins son effet en créant de nouveaux allèles. Mais en cas de réduction importante de la taille de la population (on parle de "goulot d'étranglement" génétique, ou *bottleneck*), les allèles rares sont éliminés plus rapidement, et le nombre d'allèles diminue ainsi plus rapidement que l'hétérozygotie ou diversité génétique. L'existence d'un "goulot d'étranglement" génétique *récent* a donc été recherché pour chacune des populations plasmodiales étudiée, en comparant sur le logiciel BOTTLENECK<sup>®</sup> (Cornuet et Luikart 1996; Piry *et al.* 1999) l'hétérozygotie observée pour chaque microsatellite avec l'hétérozygotie simulée dans un modèle d'équilibre entre dérive et mutations. Une hétérozygotie observée identique à l'hétérozygotie simulée signifie une population à l'équilibre. Une hétérozygotie observée supérieure à l'hétérozygotie simulée marque un déséquilibre en rapport avec un *bottleneck* récent démasquant l'effet de la dérive génétique. Une hétérozygotie observée inférieure de manière significative à l'hétérozygotie simulée suggère par contre l'existence d'une pression de sélection, médicamenteuse par exemple. En complément, une représentation graphique de la distribution des fréquences alléliques pour chaque population a également été construite en regroupant les fréquences par tranche de 0,1 afin de rechercher visuellement un déficit en allèles rares évocateur d'un *bottleneck* récent (Luikart *et al.* 1998; Anthony *et al.* 2005).

### ***Structuration génétique des populations***

La structuration génétique des populations a été étudiée grâce à la méthode des F-statistiques de Wright (Wright 1965) précédemment utilisée avec les microsatellites de *P. falciparum* (Anderson *et al.* 2000; Bogreau *et al.* 2006). L'indice  $F_{st}$  mesure la différenciation ou dissemblance génétique entre les populations, et ce paramètre a été calculé avec le logiciel FSTAT version 2.9.4 (Weir et Cockerham 1984; Goudet 2002) à partir, des données brutes issues du génotypage des 6 microsatellites pour les 5 populations parasitaires, à partir des données dépourvues des échantillons au génotypage incomplet, et à partir des haplotypes

reconstruits. Une analyse factorielle des correspondances (AFC) (projection de chaque parasite selon 2 axes permettant d'expliquer la plus grande variabilité entre les clones) a été réalisée à partir des données brutes sur le logiciel GENETIX<sup>®</sup> pour illustrer ces mesures de structuration. La représentation graphique de cette AFC a été faite sur le logiciel R<sup>®</sup>, l'estimation de l'intervalle de confiance à 95% des centroïdes de chaque population permettant de dessiner des ellipses délimitant 95% de la diversité génétique.

### ***Assignement***

Le flux de parasites étant le phénomène principal sous-tendant la structuration génétique des populations plasmodiales, une recherche des parasites provenant des populations voisines, c'est à dire un essai d'assignement des parasites aux populations voisines, a été réalisée après élimination des échantillons incomplètement génotypés, et après reconstruction, ou non, des haplotypes. Le logiciel GENECLASS 2.0. a été utilisé, selon la méthode bayésienne de Rannala & Mountain 1997 (Rannala et Mountain 1997) et avec calcul des probabilités par simulation de Monte Carlo selon l'algorithme de Rannala & Mountain 1997 (Rannala et Mountain 1997).

### ***Déséquilibre de liaison***

Le déséquilibre de liaison se définit comme la déviation de l'hypothèse d'une association aléatoire des allèles entre loci distincts. Il a été testé sur le logiciel FSTAT 2.9.4 (Goudet 2002) par une procédure de 10000 permutations, pour chacune des paires de loci microsatellites dans chaque population plasmodiale. Ces analyses ont été implémentées à partir du clone majoritaire de chaque échantillon, après élimination ou non de ceux pour lesquels le génotypage des microsatellites n'a pu être complet.

### ***Fréquence des mutations associées à la chimiorésistance***

La fréquence des mutations ponctuelles sur les gènes *Pfcr* (mutation K76T), *Pfdhfr* (triple mutation S108N+C59R+N51I) et *Pfdhps* (double mutation A437G+K540E) a été estimée. La significativité des différences entre les sites a été évaluée par le test exact de Fisher.

### ***Mesure des corrélations entre *Fst* et indicateurs épidémiologiques***

La différenciation génétique des populations plasmodiales comoriennes est en lien direct avec l'importance des flux de parasites entre les îles. Celles-ci étant bien trop éloignées

pour permettre aux anophèles de traverser, ces échanges parasitaires s'effectuent exclusivement via le déplacement des comoriens impaludés. On peut supposer que les voyages entre les îles de l'archipel sont d'autant plus intenses qu'ils s'effectuent entre des îles rapprochées. On peut également supposer que les flux de parasites peuvent être estimés en prenant en compte les flux de personnes et la prévalence (ou à défaut l'incidence) du paludisme dans l'île de départ. On peut enfin supposer que l'effet de ces flux de parasites sur la différenciation génétiques des populations plasmodiales des différentes îles dépend du niveau de dilution de ces parasites dans la population plasmodiale d'arrivée.

Une corrélation entre les  $F_{st}$  mesurés pour chaque paire d'îles et la distance géographique les séparant a donc été effectuée selon un modèle d'isolement par la distance (Rousset 1997; Anthony *et al.* 2005).

De plus, en recensant à partir des fiches de recueil ceux des patients génotypés ayant voyagé sur une île voisine et présentant donc potentiellement un paludisme d'importation, une corrélation entre ces même  $F_{st}$  et la moyenne des proportions de ces accès palustres potentiellement importés a été effectuée pour chacune des paires d'îles.

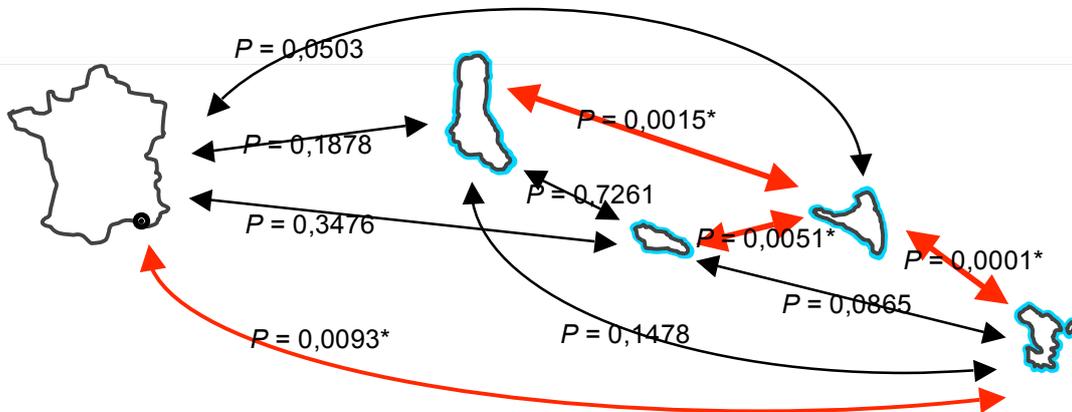
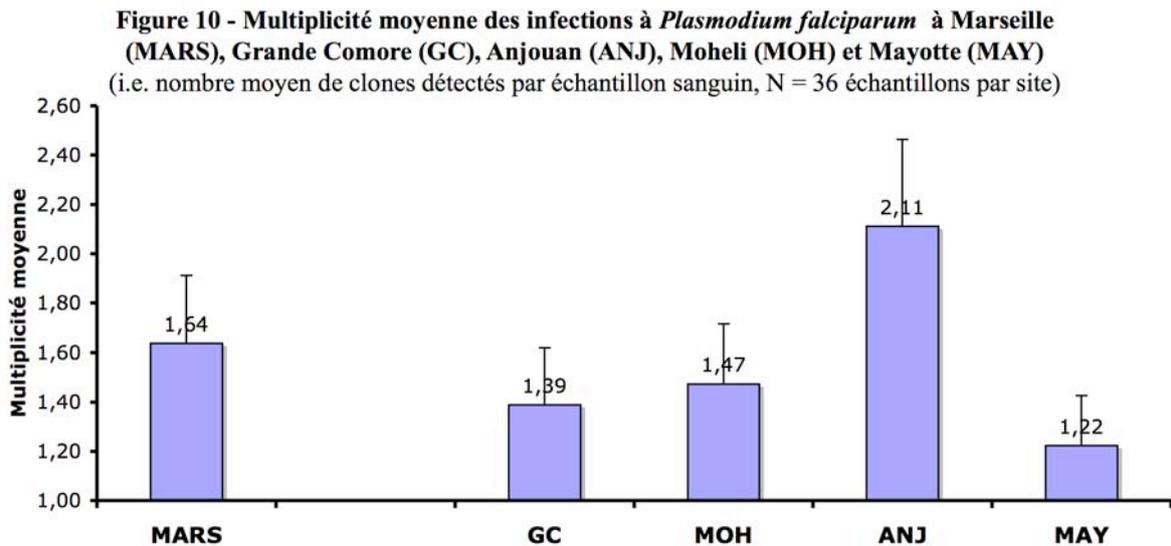
A partir de la moyenne des flux aller et retour des personnes entre chaque paire d'îles estimés par l'enquête de terrain, une corrélation a été également effectuée avec les  $F_{st}$ . En ajoutant à ces calculs l'incidence du paludisme dans l'île de départ, les flux de parasites (flux de personnes \* incidence dans l'île de départ) ont été estimés et leur moyenne pour chaque paire d'île corrélée avec les  $F_{st}$ . Enfin, en pondérant l'effet de ces flux de parasites sur l'homogénéisation des populations plasmodiales par un certain effet de dilution dans la population humaine d'arrivée (flux de personnes \* incidence dans l'île de départ / population totale d'arrivée) et dans la population plasmodiale d'arrivée (flux de personnes \* incidence dans l'île de départ / population totale d'arrivée / incidence dans l'île d'arrivée), les moyennes de ces valeurs pour chaque paire d'îles ont été corrélées avec les  $F_{st}$  correspondants.

### 4.3 RESULTATS

Parmi les 180 échantillons sanguins étudiés, le génotypage des 6 microsatellites a été complet pour 149 (83%).

#### 4.3.1 Multiplicité moyenne

Au total dans ces 180 échantillons, 281 parasites ont été détectés, dont 174 au génotype identifié complet après reconstruction. La multiplicité moyenne des populations, c'est à dire le nombre moyen de clones de *P. falciparum* détectés dans les échantillons sanguins est présentée sur la Figure 10. La multiplicité moyenne se situe entre 1,22 (déviations standard SD = 0,20, taille de l'échantillon N = 36) à MAY, et 2,11 (SD = 0,35, N = 36) à ANJ. Elle est significativement différente entre GC et ANJ ( $P = 0,0015$ ), entre ANJ et MOH ( $P = 0,0051$ ), entre ANJ et MAY ( $P = 0,0001$ ), et entre MAY et MARS ( $P = 0,0093$ ).

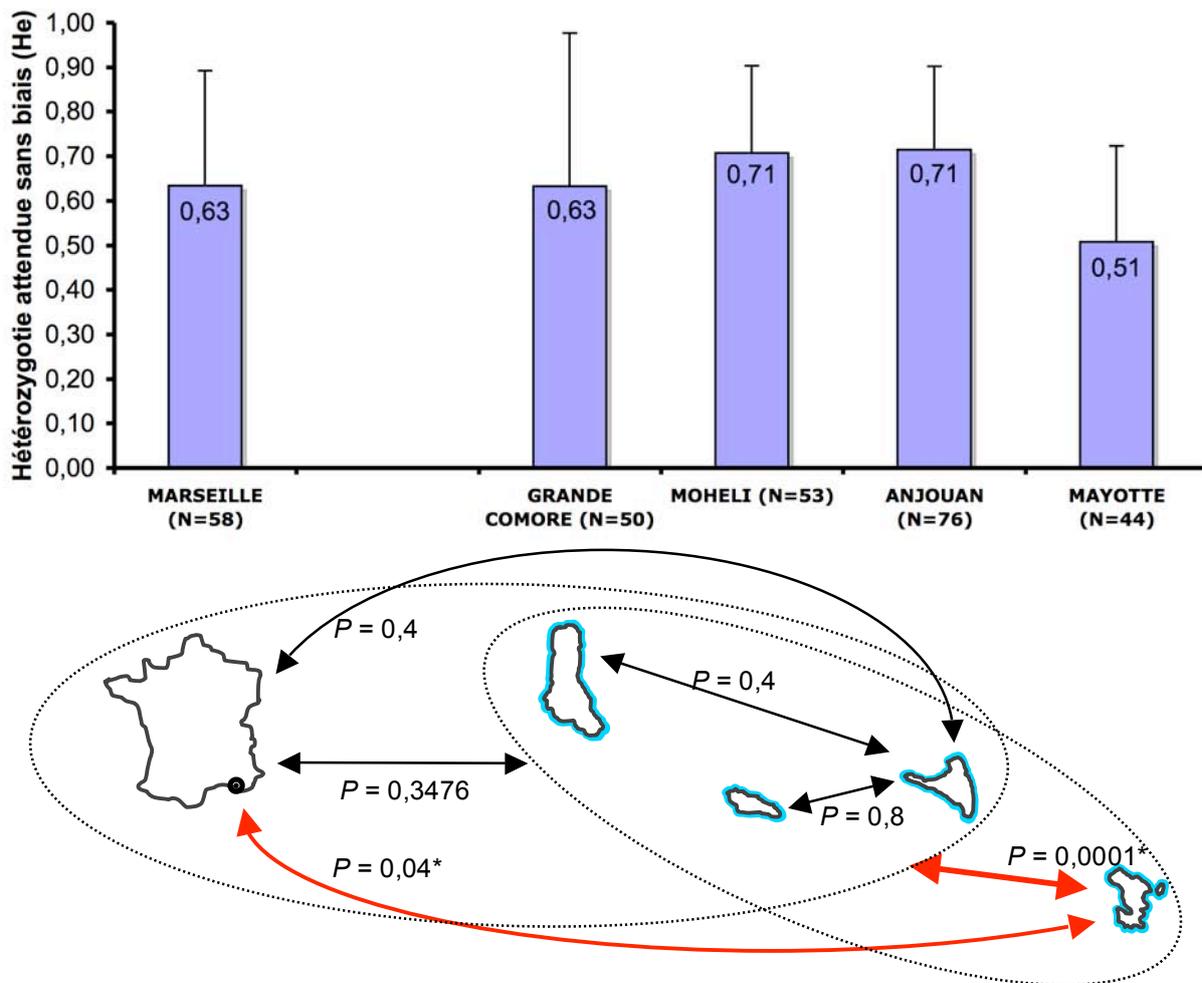


*P*-values obtenues par le U-test de Mann & Whitney. \* et flèches rouges = différences statistiquement significatives

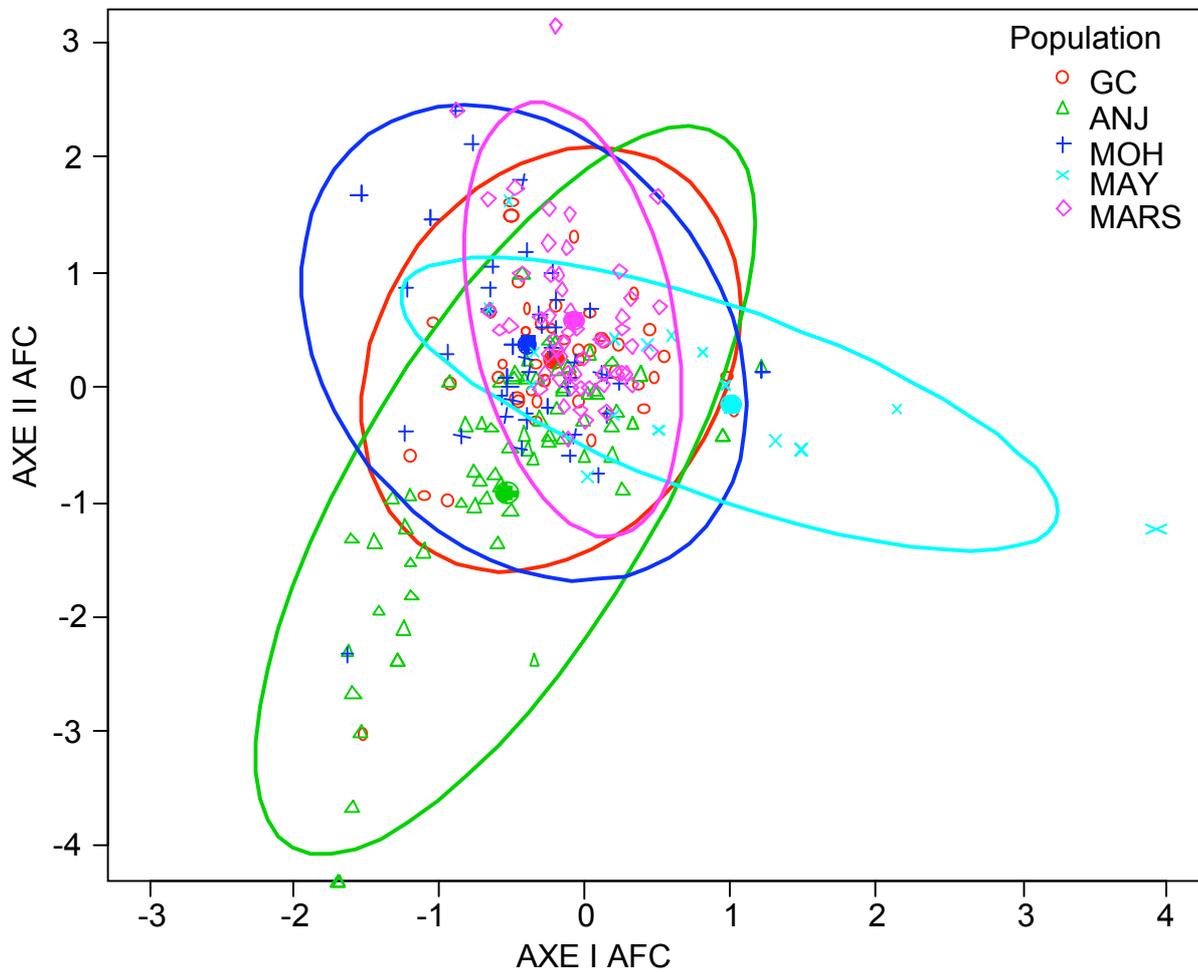
### 4.3.2 Diversité génétique

La diversité génétique de chaque population, calculée par l'hétérozygotie attendue non biaisée ( $H_e$ ) calculées à partir des fréquences alléliques des 6 microsatellites, est présentée sur la Figure 11. Pour le détail des  $H_e$  par locus, se référer à l'Annexe 3. Le nombre de clones de *P. falciparum* utilisés pour estimer le  $H_e$  par population s'étend entre 23 et 57 selon les loci et les populations. La diversité la plus importante est observée à ANJ et MOH (respectivement  $H_e = 0,71$ ,  $SD = 0,19$ , et  $H_e = 0,71$ ,  $SD = 0,20$ ). La plus faible à MAY ( $H_e = 0,63$ ,  $SD = 0,26$ ). Le  $H_e$  moyen diffère significativement entre MAY et MARS ( $H_e = 0,51$ ,  $SD = 0,21$ ) ( $P$ -value = 0,04), et entre MAY et les quatre autres sites pris ensemble (ellipse dans Fig.11 ;  $P$ -value = 0,001).

**Figure 11 – Diversité génétique des populations des Plasmodium falciparum de Marseille (MARS), Grande Comore (GC), Mohéli (MOH), Anjouan (ANJ) et Mayotte (MAY).**

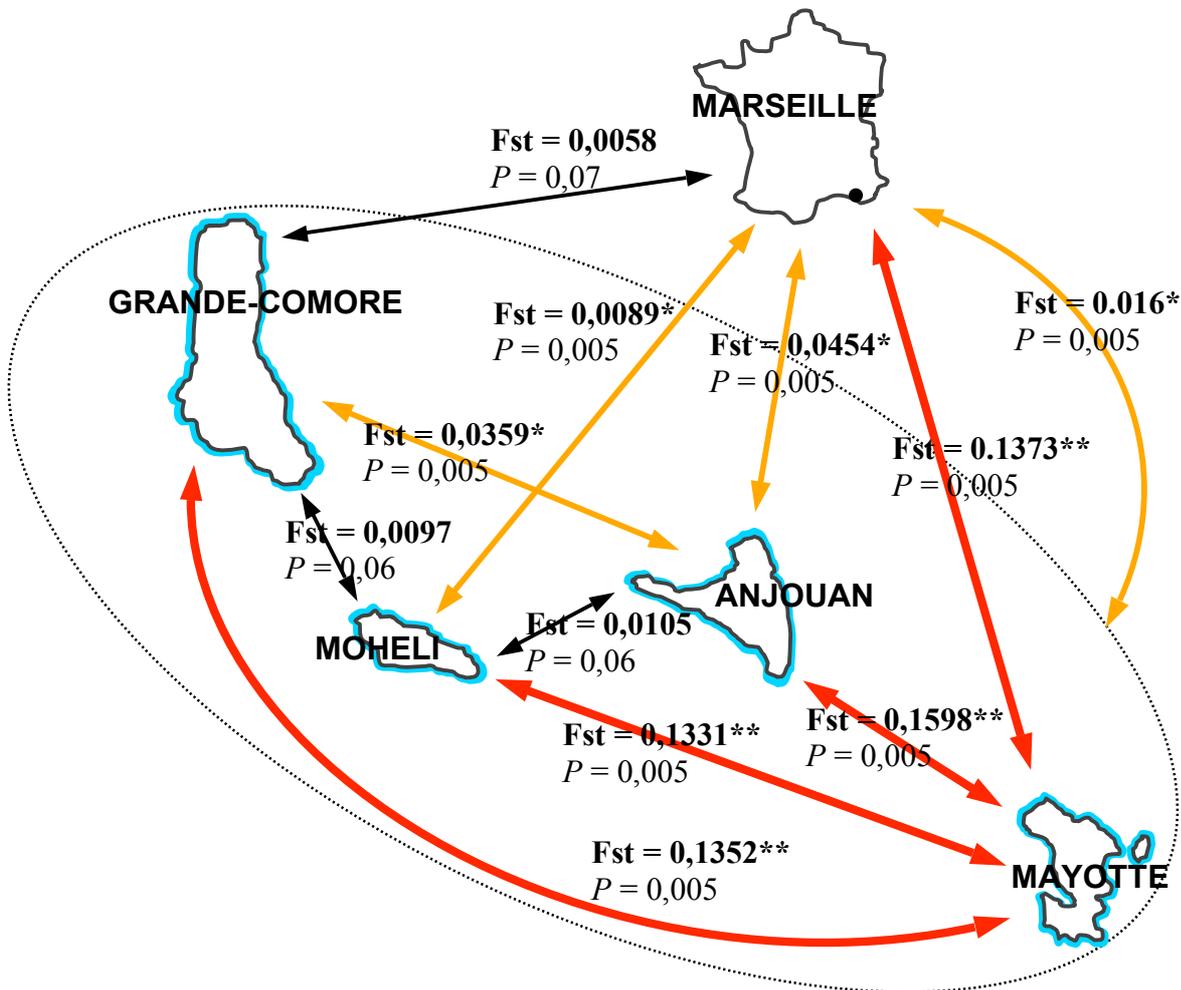


\* et flèches rouges = différence statistiquement significative ( $P$ -values calculées sur FSTAT version 2.9.4 par un test de comparaison bilatéral après 1000 permutations). Ellipses regroupant les populations de 4 sites.



**Figure 12 – Résultats de l'analyse factorielle des correspondances des échantillons de chaque population plasmodiale selon les 6 microsatellites (PF2689, 7A11, C4M79, PF2802, TRAP et C4M69).**

Le centroïde de chaque population est entouré par une ellipse représentant l'intervalle de confiance à 95% de la diversité génétique. Points et ellipse rouges = Grande Comore (GC) ; points et ellipse bleu marine = Mohéli (MOH) ; points et ellipse verts = Anjouan (ANJ) ; points et ellipse indigo = Mayotte (MAY) ; et points ellipses roses = Marseille (MARS).



**Figure 13 – Différenciation génétique (Fst) entre des populations de *Plasmodium falciparum* de Grande Comore (GC), Mohéli (MOH), Anjouan (ANJ), Mayotte (MAY) et Marseille (MARS) selon 6 microsatellites.**

Comparaisons par paire entre les populations selon le génotypage des microsatellites PF2689, C4M79, PF2802, 7A11, TRAP et C4M69. Fst partant de zéro et testés après 10000 simulations. P-values obtenues après 200 permutations et correction de Bonferroni. Différenciation significative P-value ajustée < 0,005.

**Flèches noires** = différenciation négligeable (Fst < 0,01) et non significative ; \* et **flèches oranges** = différenciation modérée (0,01 ≤ Fst < 0,1) et/ou statistiquement significative ; \*\* et **flèches rouges** = différenciation importante (Fst ≥ 0,1) et statistiquement significative.

### 4.3.3 Dérive génétique et *bottleneck*

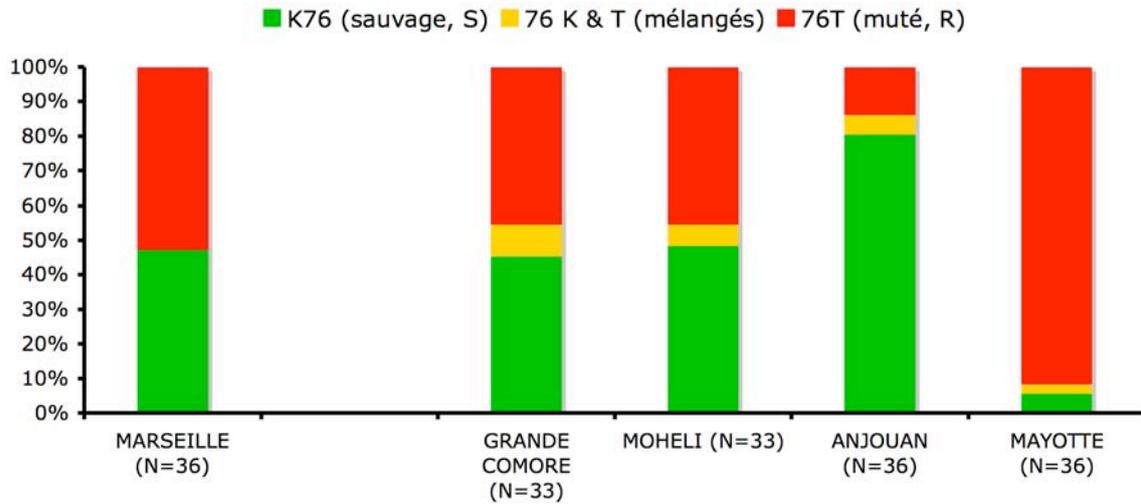
La distribution des fréquences alléliques, examinée visuellement, présente pour chaque population une forme en L, avec absence de déficit en allèles de faible fréquence ( $<0,1$ ). Cet aspect n'évoque donc pour aucune d'entre elles un *bottleneck* récent (Annexe 4). En outre, la simulation de dérive génétique effectuée ne montre pas d'écart significatif entre les hétérozygoties observées pour chaque microsatellite dans chaque population, et les hétérozygoties attendues à l'équilibre, et ce quelque soit le modèle de mutation considéré (résultats non présentés).

### 4.3.4 Différenciation génétique entre les îles et structuration

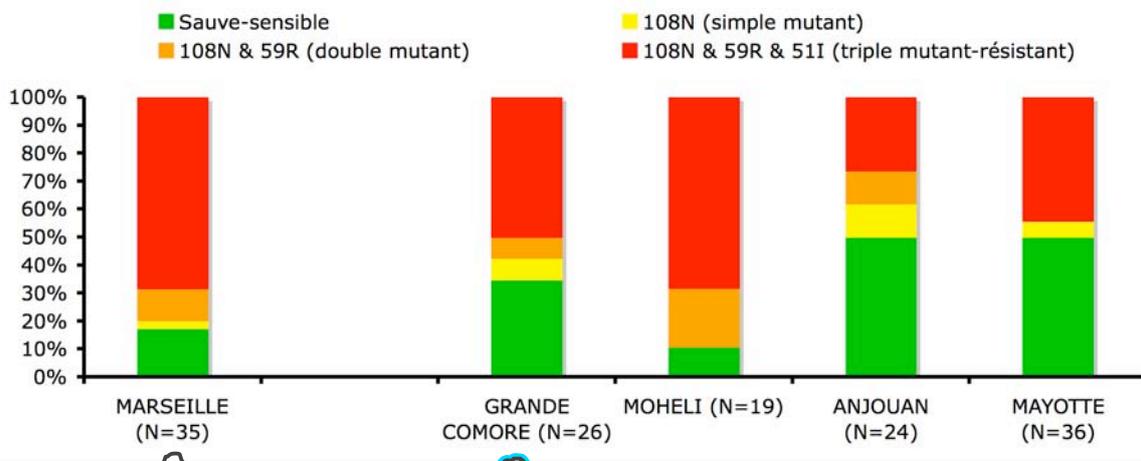
La Figure 12 présente le résultat des correspondances factorielles des parasites détectés dans chacune des 5 populations et selon les 6 microsatellites génotypés. Elle illustre la diversité génétique de chaque population plasmodiale (écartement des points et superficie de l'ellipse à 95%) ainsi que la différenciation génétique entre ces populations (recouvrement plus ou moins important des ellipses les unes avec les autres). La population MARS est largement incluse dans les populations GC et MOH, signant une proximité génétique entre ces populations. GC et MOH semblent également proches. ANJ présente une diversité génétique importante et une différenciation plus nette. MAY présente une faible diversité génétique et une différenciation marquée avec les autres populations.

La Figure 13 représente la comparaison des 5 populations plasmodiales selon le génotypage des 6 microsatellites, quantifiée par le coefficient de différenciation  $F_{st}$ . Les calculs ont été effectués à partir des données brutes ( $n = 50, 53, 76, 44$  et  $58$ , respectivement pour GC, MOH, ANJ, MAY et MARS). La population MOH n'apparaît pas significativement différente de GC et ANJ (respectivement  $F_{st}=0,0097, P=0,06$ , et  $F_{st}=0,0105, P=0,06$ ). Au contraire, la population MAY présente une importante dissemblance avec les autres populations ( $F_{st}=0,1352, P=0,005$  avec GC ;  $F_{st}=0,1598, P=0,005$  avec ANJ ;  $F_{st}=0,1331, P=0,005$  avec MOH ; et  $F_{st}=0,1373, P=0,005$  avec MARS). De plus, MARS présente une population significativement différente de tous les sites à l'exception de GC ( $F_{st}=0,0058, P=0,07$  avec GC ;  $F_{st}=0,0454, P=0,005$  avec ANJ ;  $F_{st}=0,0089, P=0,005$  avec MOH ; et  $F_{st}=0,1373, P=0,005$  avec MAY). Les résultats sont globalement inchangés lorsque les  $F_{st}$  sont recalculés à partir des clones majoritaires complets ou à partir des haplotypes reconstruits, et lorsqu'ils sont calculés selon l'indice de Slatkin sur le logiciel Arlequin® (résultats non présentés).

**Figure 14 - Fréquence des allèles sauvage-sensible (K76) et muté-résistant (76T) du gène *Pfprt* pour les 5 populations de *P. falciparum***  
(N = nombre d'échantillons génotypés)



**Figure 15 - Fréquence des mutations du gène *Pfdhfr* pour les 5 populations de *P. falciparum*.**  
(N = nombre d'échantillons avec analyse des 3 codons)



#### 4.3.5 Assignement

Quelques résultats des procédures d'assignement sont présentés dans l'Annexe 5. Ils confirment globalement les indices *F<sub>st</sub>*. Un seul des parasites de MAY peut être assigné avec une probabilité  $\geq 50\%$  à la population de GC. Les parasites de MAY ne sont donc pas des migrants récents issus des populations parasitaires échantillonnées en Union des Comores. Pour la population plasmodiale de MARS, 7 parasites peuvent être assignés à GC et à MOH. Seuls 3 parasites peuvent être assignés à ANJ. Zéro à MAY.

#### 4.3.6 Déséquilibre de liaison

Que ce soit à partir des génotypes microsatellites des clones majoritaires ( $n=180$ ), des clones majoritaires complets ( $n=149$ ), ou des haplotypes reconstruits ( $n=174$ ), seule la population plasmodiale de MAY présente plusieurs paires de loci associés de manière significative ( $P < 0,00067$ ) (Annexe 6). Ces 7 paires, parmi les 15 possibles, concernent des marqueurs tous situés sur des chromosomes différents (Tableau 10). Quatre des 5 paires impliquant le locus C4M79 présentent un déséquilibre de liaison significatif à MAY. Parmi les 5 paires impliquant le locus 7A11, une seule présente un déséquilibre de liaison (7A11 x C4M79).

#### 4.3.7 Fréquence des mutations ponctuelles associées à la chimiorésistance

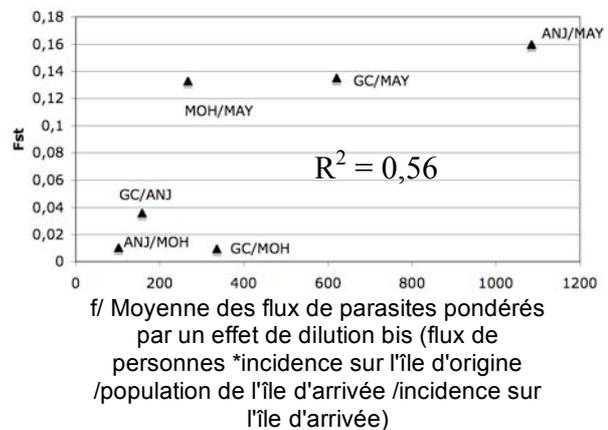
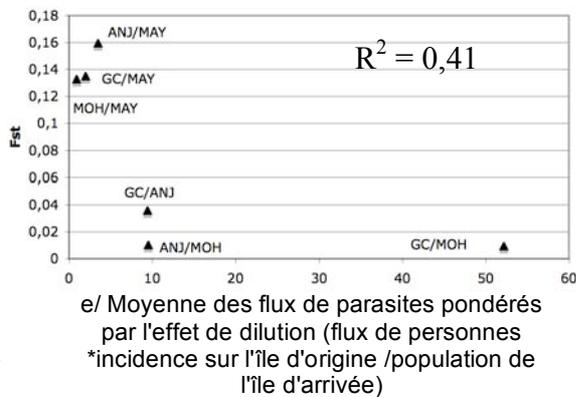
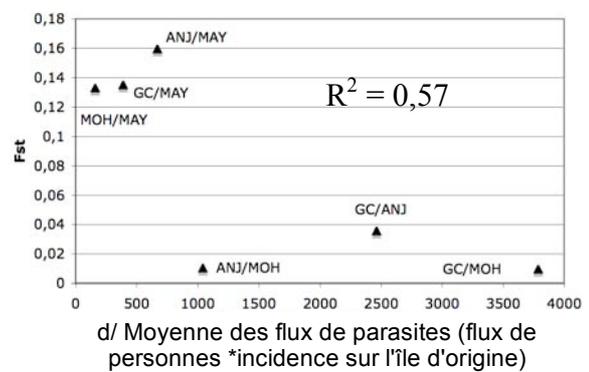
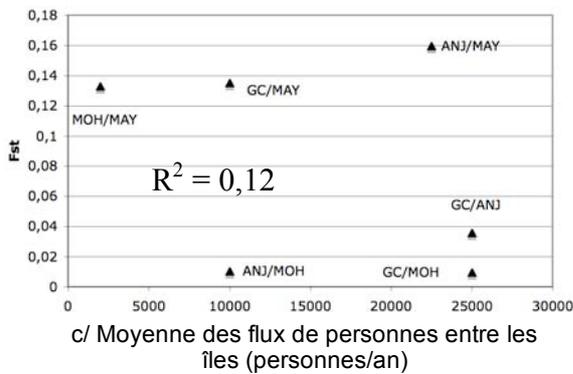
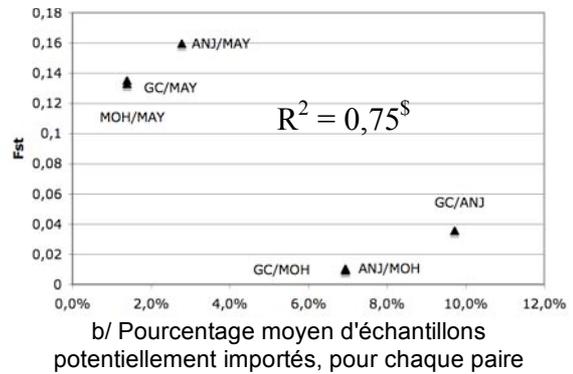
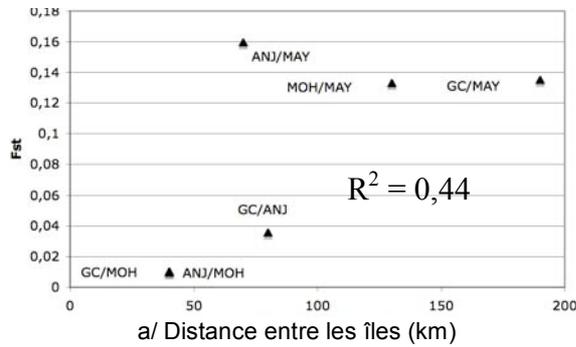
La fréquence des mutations des gènes *Pfcr*, *Pfdhfr* et *Pfdhps* dans les 5 populations de *P. falciparum* est présentée dans l'Annexe 7, et les Figures 14 et 15. La fréquence la mutation de *Pfcr* (échantillons avec détection de l'allèle 76T seul ou associé à l'allèle sauvage K76) est significativement plus faible pour ANJ (19,4%,  $N=36$ ,  $SD=6,6\%$ ) que pour les autres populations ( $p=0,002$  avec GC, selon le test exact de Fisher ;  $p=0,004$  avec MOH ;  $p<0,0001$  avec MAY ; et  $p=0,003$  avec MARS). La fréquence de la mutation est significativement plus élevée à MAY (94,4%,  $N=36$ ,  $SD=3,8\%$ ) que dans les autres populations ( $p=0,0001$  avec GC ;  $p<0,0001$  avec ANJ ;  $p<0,0001$  avec MOH ; et  $p<0,0001$  avec MARS). Enfin, il n'existe pas de différence significative entre les fréquences de la mutation de *Pfcr* à GC, MOH et MARS.

Concernant les gènes *Pfdhfr* et *Pfdhps*, quelques échantillons multiinfectés présentent des ambiguïtés de génotypage rendant impossible la distinction entre les clones associés mutés plus ou moins partiellement. Mais leur proportion reste faible, et la fréquence des mutations apparaît guère différente selon qu'ils sont pris en compte ou éliminés pour les analyses. Lorsqu'il est muté, le gène *Pfdhfr* présente fréquemment l'association des 3 mutations 108N, 59R et 51I, conférant une résistance à la pyriméthamine et au cycloguanil.

## Figure 16 – Corrélations entre distance génétique et différents indicateurs en rapport avec les flux de parasites

Associations mesurées par calcul des coefficients des corrélation R.

<sup>s</sup> R<sup>2</sup> significatif ( P-value<0.05, selon la méthode du test du coefficient de corrélation)



La fréquence de la triple mutation apparaît significativement plus basse à ANJ (26,5%, N=34, SD=7,6%) qu'à GC (50,0%, N=26, SD=9,8%) ( $p=0,04$ ), MOH (68,4%, N=19, SD=10,7%) ( $p=0,003$ ), et MARS (68,6%, N=35, SD=7,8%) ( $p=0,0004$ ). Cette fréquence est également significativement plus élevée à MARS qu'à MAY (44,4%, N=36, SD=8,3%) ( $p=0,02$ ).

Enfin, la fréquence des mutations de *Pfdhps* apparaît faible pour les 5 populations.

#### 4.3.8 Corrélations entre Fst et indicateurs épidémiologiques

**Fst et distances géographiques** – L'association entre distance génétique (Fst) et distance géographique entre les îles est représentée Figure 16a. Sans avoir recours à des transformations, Fst et distances en kilomètres apparaissent également associés mais de manière non significative ( $R^2=0,44$ ). La paire ANJ/MAY, caractérisée par une distance génétique importante alors que ces 2 îles ne sont séparées que de 70 km, s'écarte nettement des autres points.

**Fst et échantillons importés** – Parmi les 144 échantillons génotypés pour 4 îles de l'archipel, seuls 20 ont été prélevés de patients ayant rapporté un voyage récent sur une île voisine (6/36 pour GC, 10/36 pour MOH, 2/36 pour ANJ et 2/36 pour MAY). La corrélation entre les moyennes des proportions d'accès palustres potentiellement importés entre chaque île et les Fst correspondants est représentée Figure 16b. Avec un coefficient de corrélation  $R^2$  à 0,75, ces deux variables apparaissent fortement corrélées de manière significative ( $P<0,03$ , calculé par la méthode du test du coefficient de corrélation).

**Fst et flux de personnes** – L'association entre Fst et flux de personnes entre les îles (estimés sur le terrain en nombre de voyageurs par an), bien qu'en théorie plus pertinente que l'association Fst-distance géographique, apparaît très faible ( $R^2=0,12$ ) (Fig. 16c). L'écart de ANJ/MAY est ici encore plus important, sans que cela soit expliqué par un flux de personnes trop faible pour la distance en comparaison avec la paire GC/ANJ dont la distance géographique est proche (résultat non présenté).

**Fst et flux de parasites** – Le flux de parasites est théoriquement un paramètre plus pertinent. A défaut de disposer de la prévalence pour toutes les îles, une approximation de ces flux de parasites en fonction de l'incidence de la maladie en 2006 (Partie 3.4 et Tableau 7) a été calculée. Avec cette approche, les Fst observés apparaissent en partie explicables par le nombre de parasites circulant entre les îles (Fig. 16d), l'écart de la paire ANJ/MAY étant en effet amortie par la faible incidence du paludisme à MAY. Mais il ne se dégage pas de corrélation significative.

***Fst et flux de parasites pondérés par un effet de "dilution"*** – Enfin, le nombre d'habitants étant très différent selon les îles (Tableau 1), il apparaît pertinent de pondérer ces flux de parasites par un effet de dilution dans la population d'arrivée. Mais l'association de ces variables avec les *Fst* correspondants n'apparaît pas meilleure (Fig. 16e), la paire GC/MOH se retrouvant alors très à l'écart. Mais lorsque l'on prend en compte l'incidence du paludisme sur l'île d'arrivée, afin de considérer l'effet d'une dilution des parasites dans la population plasmodiale d'arrivée, l'association avec les *Fst* correspondants gagne en force (Fig. 16f).

#### **4.3.9 Association entre pression médicamenteuse et fréquence des résistances**

***Antécédents de prise d'antipaludiques chez les patients échantillonnés*** – Parmi les 144 patients échantillonnés dans l'archipel, seuls 10 ont fait mention d'une prise d'antipaludique datant de moins d'un mois. Il s'agissait de quinine dans 5 cas, de Fansidar<sup>®</sup> dans 1 cas, mais jamais de chloroquine. Dans ces conditions, aucune association avec le génotypage des résistances pratiqué n'a pu être réalisé. Concernant la population recueillie à Marseille, la notion de chimioprophylaxie était absente ou non précisée pour 68 des 111 patients recueillis au total. Au final, 31 patients rapportaient une consommation de chloroquine, et seulement 11 une prise de proguanil.

***Consommation en antipaludiques en Union des Comores*** – Les mouvements de stock de la Pharmacie Nationale Autonome des Comores (PNAC) de Moroni ont été récoltés pour la période 2004-2008 afin de déterminer la consommation en antipaludique de chaque île de l'Union des Comores. Cependant dans les faits, la plupart des nombreuses pharmacies et dépôts privés, notamment à Anjouan, préfèrent se fournir directement en Afrique de l'Est ou en France. Les registres des principales pharmacies de Moroni (GC) et de Mutsamudu (ANJ) ont donc été sollicités. Mais en raison du nombre très important de pharmacies et de dépôts de médicaments (une centaine rien qu'à ANJ, dont la moitié sans autorisation), de l'importance des données manquantes, et du recours fréquent à l'automédication, aucune estimation fiable de la consommation en antipaludiques n'a pu être obtenue, et aucune corrélation avec la fréquence des marqueurs de résistance sur *Pfcr*, *Pfdhfr* et *Pfdhps* sur ces îles n'a pu être non plus réalisée.

## 4.4 DISCUSSION

### 4.4.1 Hétérogénéité des populations plasmodiales de l'archipel des Comores

La **multiplicité moyenne** des infections (c'est à dire le nombre moyen de clones de *P. falciparum* détectés par échantillon sanguin) apparaît globalement basse au sein des 5 populations plasmodiales étudiées, en comparaison avec d'autres régions de forte endémicité palustre (Bogreau *et al.* 2006). Cette faible multiplicité reflète vraisemblablement le niveau de transmission modéré prévalant sur l'archipel (Partie 3.3). La multiplicité moyenne significativement plus élevée pour ANJ que pour les autres populations pourrait ainsi refléter des niveaux de transmission plus importants sur l'île d'Anjouan, pour des raisons géo-climatiques et de lutte antivectorielle handicapée il est vrai ces dernières années par les troubles politiques réguliers. Aucune étude entomologique à l'appui de cette hypothèse n'est cependant disponible. A l'inverse, la multiplicité moyenne plus basse à MAY que dans les autres sites pourrait refléter les importants efforts de lutte antivectorielle consentis par les autorités sanitaires françaises depuis bientôt quatre décennies à Mayotte et renforcés avec la crise du chikungunya en 2006 (donnée JF Lepère). La multiplicité de MAY pourrait également avoir été sous-estimée par la diversité génétique encore plus faible dans cette population plasmodiale que dans les autres, les clones parasites associés dans un échantillon pouvant être rendus indistinguables. Les 5 populations plasmodiales étudiées apparaissent donc significativement hétérogènes au niveau de leur multiplicité.

Leur **diversité génétique**, exprimée par l'indice d'hétérozygotie attendue ( $H_e$ ), apparaît plus faible (0,51-0,71) que sur la majeure partie du continent africain (Sénégal, Niger, Côte d'Ivoire, Ouganda, Congo, Zimbabwe, où les  $H_e$  s'échelonnent entre 0,73 et 0,80) (Anderson *et al.* 2000; Bogreau *et al.* 2006), mais plus importante qu'en Asie ou qu'en Amérique du Sud (Anderson *et al.* 2000). Cette différence est la probable conséquence de l'isolement géographique de l'archipel et de la transmission plus basse qu'en Afrique continentale. Elle est par ailleurs plus ou moins hétérogène selon les îles de l'archipel des Comores, surtout vis à vis de MAY.

Cette hétérogénéité se retrouve également au niveau de la **structuration des populations** de *P. falciparum* mesurée par coefficients  $F_{st}$  de différenciation génétique basés sur le génotypage de 6 microsatellites. Elle montre en effet une situation contrastée selon les îles considérées, la distance génétique étant faible entre les 3 îles de l'Union des Comores (GC, MOH et ANJ) dont les populations semblent donc homogènes, alors qu'elle apparaît très importante entre ces îles et Mayotte, de l'ordre de ce qui est observé entre des régions aussi

géographiquement éloignées que Djibouti et le Sénégal (Bogreau *et al.* 2006) ou que l'Afrique et l'Asie (Anderson *et al.* 2000).

La distance génétique entre deux populations plasmodiales dépend théoriquement du niveau de brassage génique les reliant, assuré par les flux de personnes parasitées que l'on peut supposer d'autant plus intenses que la distance géographique séparant ces populations est faible. Notre étude montre justement que les distances génétiques entre les populations plasmodiales comoriennes (mesurées par l'indice  $F_{st}$ ) semblent associées avec les distances géographiques les séparant. Ces  $F_{st}$  semblent encore plus largement explicables par les flux de parasites circulant entre les îles, qu'ils soient obtenus de manière indirecte par estimation sur le terrain des flux de personnes, ou de manière plus directe au sein de notre échantillon à partir de la proportion des patients ayant déclaré un voyage récent sur l'une des îles voisines. Bien que leur mode d'estimation soit des plus approximatif, ces degrés variés de flux de parasites peuvent ainsi expliquer le fait que GC et MOH, et ANJ et MOH n'apparaissent pas différenciés, que GC et ANJ présentent une dissemblance modérée, et que la population MAY soit par contre différenciée des autres de manière très intense.

En complément, la faible différenciation entre les îles de l'Union des Comores (GC, MOH et ANJ) est confirmée par l'absence de **déséquilibre de liaison** dans l'ensemble de ces populations, qui signe un brassage aléatoire entre les 6 loci microsatellites génotypés. Par contre la présence d'un important déséquilibre de liaison à MAY suggère une situation plus complexe.

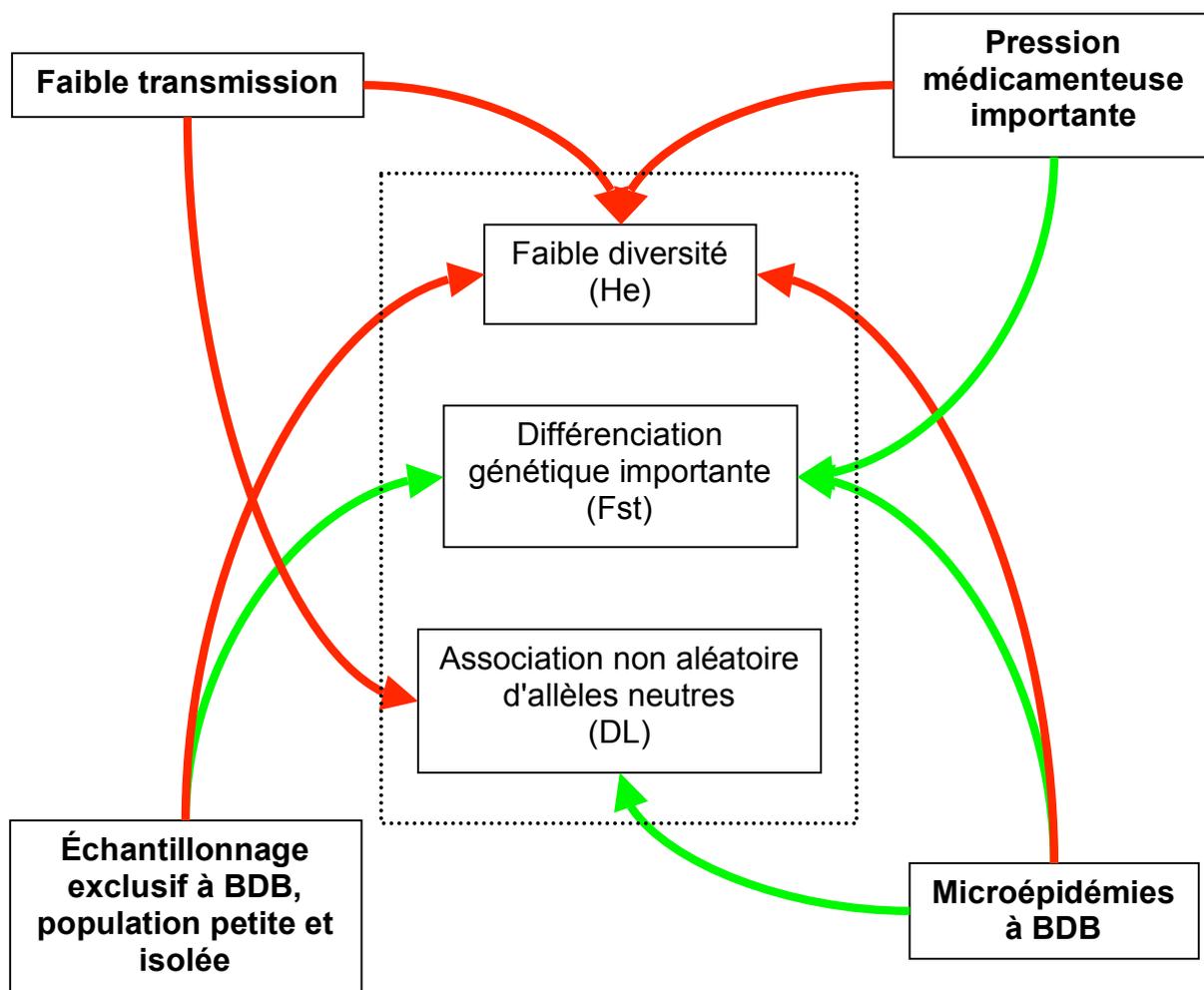
#### 4.4.2 Situation épidémiologique particulière à Mayotte

La population plasmodiale échantillonnée à Mayotte présente donc une situation épidémiologique particulière au sein de l'archipel comorien en alliant : (1) une diversité génétique plus faible ( $H_e=0,51$ ), non compensée par le flux génique provenant des îles voisines comme le suggère (2) la différenciation génétique très marquée ( $F_{st}$  entre 0,13 et 0,15), et enfin (3) un déséquilibre de liaison important (DL). Plusieurs hypothèses non exclusives les unes des autres peuvent expliquer ces données de génétique des populations (Fig. 17).

Premièrement, le **faible niveau de transmission** du paludisme à Mayotte est un facteur pouvant limiter la diversité génétique de *P. falciparum* dans cette population. En zone de faible transmission, les populations plasmodiales sont en effet généralement de plus petite taille, ce qui limite la possibilité de générer de la diversité génétique.

La faible transmission à Mayotte pourrait également expliquer en partie le déséquilibre de liaison important observé dans cette population plasmodiale, en limitant la multiplicité des infections à MAY et donc les possibilités de recombinaison génétique lors de la reproduction sexuée chez le moustique.

**Figure 17 – Situation épidémiologique de la population plasmodiale de Mayotte (MAY). Indices mesurés (He, Fst, DL) et déterminants épidémiologiques sous-jacents.** (Flèches = associations causales probables à MAY. Vert = effet positif sur l'indice ; rouge = effet négatif sur l'indice. BDB = Bandraboua)



Deuxièmement, malgré le faible niveau de transmission, il existe à Mayotte une **importante pression de sélection médicamenteuse**, notamment à la chloroquine, illustrée par le niveau très important de mutation K76T du gène *Pfcr* observé, et vraisemblablement en lien avec le bon accès aux soins et les années de chimioprophylaxie de masse. Cette pression médicamenteuse pourrait ainsi également limiter la diversité génétique observée à MAY. La restriction d'hétérozygotie à MAY par rapport aux autres populations est en effet principalement observée sur le locus 7A11 (Annexe 3), situé sur le même chromosome que

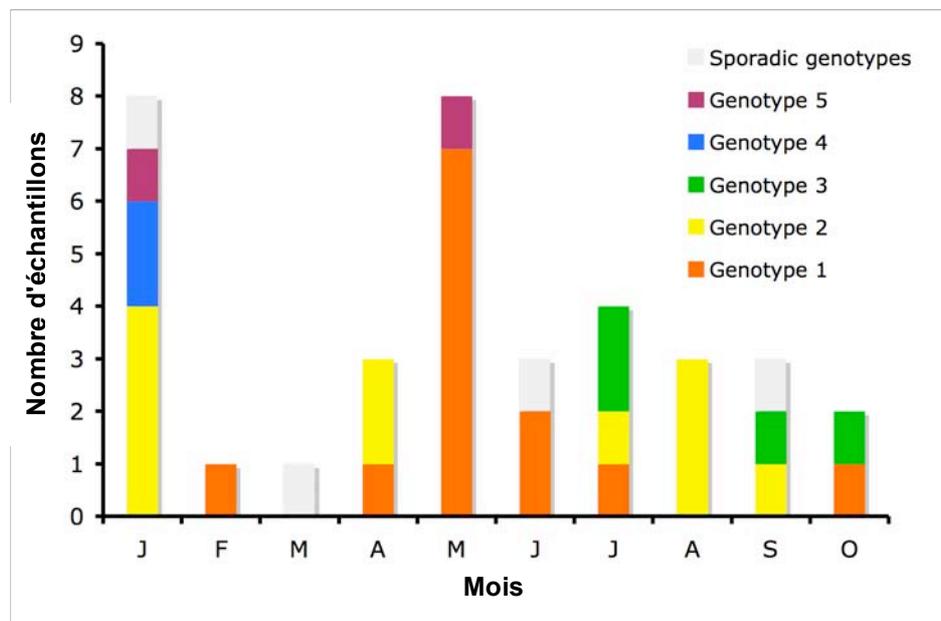
*Pfcr* et connu pour faire partie du "*selective sweep*" autour de ce gène (Wootton *et al.* 2002). Les allèles de 7A11 pourraient ainsi avoir été sélectionnés avec la mutation de *Pfcr* sous la pression sélective de la chloroquine. En revanche, la faible diversité génétique à MAY ne semble pas être liée à une réduction importante et récente de la taille de la population (*bottleneck*) induite par la pression médicamenteuse. Mais cette analyse est limitée par le faible nombre de loci étudiés.

En outre, la pression médicamenteuse importante à Mayotte a pu accentuer la différenciation génétique de sa population plasmodiale, en limitant sa taille et modifiant ses fréquences alléliques de manière suffisante pour conduire à une surestimation de ses *Fst*. Elle pourrait également l'avoir fait en modifiant plus spécifiquement les fréquences alléliques du marqueur 7A11 associé au gène *Pfcr*, comme le suggère le fait que les *Fst* impliquant MAY recalculés avec seulement 5 microsatellites sans 7A11 soient minorés, tout en demeurant certes importants (résultats non présentés).

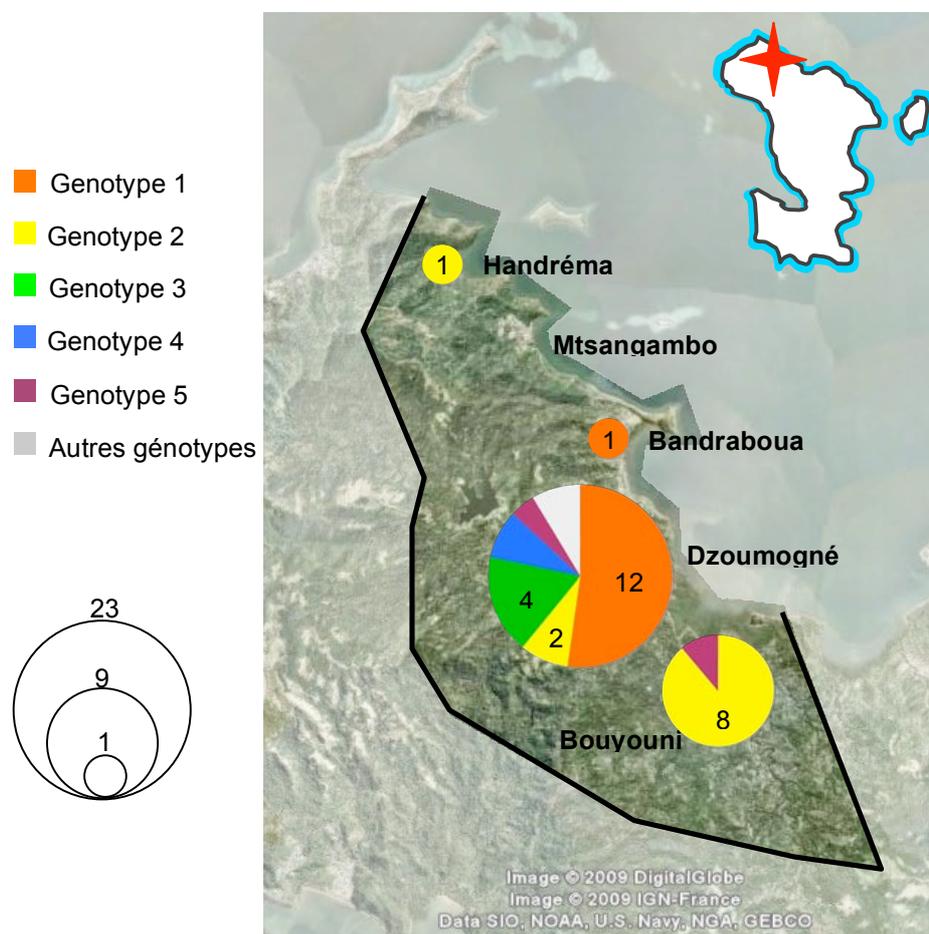
La présence d'un important déséquilibre de liaison à MAY suggère cependant qu'un troisième phénomène pourrait intervenir pour expliquer cette situation épidémiologique particulière : ***l'échantillonnage dans la population isolée de Bandraboua***. En effet, un déséquilibre de liaison peut s'expliquer par un biais d'échantillonnage lorsque l'on considère à tort plusieurs populations plus ou moins isolées comme une seule population homogène (effet Wallhund). Certaines associations entre allèles en théorie possibles n'étant pas observées, un fort déséquilibre est alors engendré. Le fait que l'échantillonnage de MAY ait été effectué exclusivement à Bandraboua pourrait avoir engendré cette situation. Dans la commune de Bandraboua (BDB) surviennent en effet près de la moitié des cas de paludisme de Mayotte. Le paludisme d'importation y est pourtant très faible (de l'ordre de 5%) par rapport au reste de l'île (de l'ordre de 80%) (Partie 3). Cette population semble donc particulièrement isolée du reste des populations plasmodiales comoriennes. La possibilité d'avoir échantillonné à BDB à la fois des parasites endémiques au site et des parasites provenant du reste de l'archipel pourrait ainsi avoir été source de déséquilibre de liaison. Néanmoins, l'homogénéité des populations plasmodiales comoriennes (*Fst* <0.036) et l'absence de déséquilibre de liaison à l'échelle de l'Union des Comores éliminent cet éventuel effet Wallhund lié à un mélange des populations comoriennes à BDB comme source du déséquilibre de liaison observé à MAY.

L'isolement marqué de la population plasmodiale de Bandraboua peut cependant expliquer la différenciation génétique marquée de MAY (*Fst* importants et assignement quasi

**Figure 18A – Distribution mensuelle des génotypes obtenus en 2007 sur la commune de Bandraboua, Mayotte (N = 36 échantillons)**



**Figure 18B – Distribution spatiale des génotypes de *Pf* sur la commune de Bandraboua** (i.e. nombre d'échantillons contenant chaque génotype, selon le village d'origine de chaque patient échantillonné)



nul des parasites aux populations voisines), malgré les intenses flux de personnes entre Mayotte et les autres îles. De plus, en dépit de la petite taille de Mayotte et de son réseau routier bien développé, cette différenciation intense de MAY suggère que la population BDB est également isolée génétiquement du reste de l'île, et ce pour des raisons mystérieuses. Ainsi, l'immigration comorienne à Mayotte semble peu influencer, sinon sur le réservoir de parasites de l'île, du moins sur celui de Bandraboua.

Par ailleurs, cet isolement génétique de la population BDB peut également expliquer la faible hétérozygotie observée ( $H_e$ ), en raison du faible apport de nouveaux allèles depuis les autres populations plasmodiales comoriennes.

Toutefois, l'analyse de la population plasmodiale de BDB met en évidence un nombre important de génotypes identiques sur l'ensemble des marqueurs moléculaires (microsatellites et résistance). Deux génotypes particulièrement fréquents sont à eux seuls présents dans respectivement 12 et 13 échantillons. Leur distribution est à la fois groupée dans le temps (Fig. 18A), et dans l'espace (Fig. 18B: chaque génotype est associé à un village de la commune ( $p < 0.008$ , selon le test exact de Fisher). Cette structuration spatio-temporelle locale est la signature de *microépidémies*, qui constituent donc le quatrième phénomène épidémiologique intervenant à Bandraboua. Cette situation est confirmée par le fait que près des  $\frac{3}{4}$  des cas déclarés en 2004 à BDB étaient effectivement des cas groupés (contre  $\frac{1}{4}$  pour le reste de l'île) (Quatresous *et al.* 2005), et la survenue de ces microépidémies est justement rendue possible par la situation globalement hypoendémique du paludisme à Mayotte (Partie 2.3.3 et Partie 3).

Des populations plasmodiales oligo-clonales, émergeant au cours de ces microépidémies, constituent donc majoritairement notre échantillonnage à MAY. Ceci peut expliquer d'une part la faible diversité observée sur l'île, la présence d'un important déséquilibre de liaison génétique (certains mélanges d'allèles ne pouvant s'effectuer entre des génotypes qui ne sont pas concomitants dans le temps et l'espace), et les importants  $F_{st}$  entre MAY (principalement BDB) et les autres îles (du fait que certaines fréquences alléliques soient très augmentées).

#### **4.4.3 Faible représentativité de la population plasmodiale échantillonnée à Marseille**

L'analyse des  $F_{st}$  montre une différenciation faible à modérée mais significative entre la population parasitaire importée à Marseille et la population globale des 4 îles, ainsi qu'entre

cette population de MARS et les populations de MOH, ANJ et MAY prises séparément. Il convient cependant de nuancer l'importante différenciation génétique observée avec MAY, en raison des microépidémies survenant à Bandraboua, où la population MAY a été exclusivement échantillonnée. Il existe en revanche une proximité génétique entre ces isolats importés à Marseille et la population parasitaire de GC (Fst négligeable, et assignement possible de plusieurs parasites), ce qui n'est pas surprenant considérant que la majorité des comoriens de Marseille sont issus de la Grande Comore et voyagent ainsi sur cette île plutôt que sur une autre (Partie 2.1.3.). La population de *P. falciparum* importée à Marseille pourrait par conséquent être représentative uniquement de la population plasmodiale de la Grande Comore.

#### 4.4.4 Niveaux contrastés de chimiorésistance entre les îles mal expliqués par la structuration des populations

La prévalence de la **mutation K76T du gène Pfcr**, associée à la chloroquinorésistance, est élevée en GC et à MOH, comme cela a déjà été retrouvé dans des études antérieures (Partie 3.6, Tableau 9C et Fig. 8). A l'inverse, ANJ présente une prévalence significativement plus basse de cette mutation. Cette différence ne saurait être expliquée par la structuration des populations plasmodiales qui tendrait à homogénéiser ces populations. Elle relève donc plutôt de niveaux de pression médicamenteuse contrastés, pour lesquels il n'existe néanmoins aucune donnée fiable à ce jour.

La prévalence des **mutations du gène Pfdhfr** associées avec la résistance à la pyriméthamine et au cycloguanil montre des résultats également contrastés. Lorsqu'il est muté, le gène présente fréquemment la triple association des mutations 108, 59 et 51, les simples ou doubles mutants demeurant rares. La prévalence des triples mutants significativement plus élevée à MOH (68,4%) qu'à ANJ (26,5%) ne peut pas être expliquée par la seule structuration des populations. Elle pose la question d'une utilisation plus importante du Fansidar<sup>®</sup> à visée antipaludique à MOH qu'à ANJ. Bien que les données de pression médicamenteuse soient très imprécises, il semble de façon paradoxale que l'utilisation du Fansidar<sup>®</sup> ait été particulièrement importante à Anjouan depuis 2004, en raison du prix nettement plus important du Coartem<sup>®</sup> (malgré sa subvention par le Fond Mondial) et de ses difficultés d'approvisionnement à Anjouan (du fait des soubresauts autonomistes de ces dernières années) (données personnelles). En revanche, l'association triméthoprim-sulfaméthoxazole (cotrimoxazole ou Bactrim<sup>®</sup>), médicament apparenté au Fansidar<sup>®</sup> et dont la capacité à sélectionner les mutants résistants au Fansidar<sup>®</sup> est discutée (Anglaret 2001;

Whitty et Jaffar 2002), semble largement plus consommé à visée antibactérienne à MOH qu'à ANJ, ce qui pourrait expliquer le paradoxe. Signalons à ce sujet, que la prévalence de l'infection à VIH étant faible au Comores (World Health Organization 2006), l'utilisation du Bactrim<sup>®</sup> en prévention de la pneumocystose et de la toxoplasmose dans le SIDA ne saurait constituer par ce biais un surplus de pression sélective sur les gènes *Pfdhfr* et *Pfdhps* de *P. falciparum*.

Conformément aux données de la littérature, la chloroquinorésistance à **Mayotte** est plus fréquente que dans les autres populations, probablement du fait de l'importante pression médicamenteuse. Par ailleurs, le nouveau protocole thérapeutique de 2002 recommandant l'association chloroquine-Fansidar<sup>®</sup>, qui semble avoir été bien suivie (Solet *et al.* 2007), a conduit sur l'île à une large utilisation du Fansidar<sup>®</sup>. La fréquence des triples mutants *Pfdhfr* est demeurée pourtant stable aux alentours de 40% entre 2001 et 2007. Le Bactrim<sup>®</sup>, dont l'utilisation est limitée à Mayotte (donnée JF Lepère) ne semble pas avoir exercé de pression sélective particulière sur ce marqueur. En outre, l'évolution microépidémique du paludisme à Bandraboua peut théoriquement conduire à propager des résistances sélectionnées par les traitements. Ainsi, parmi les 2 clones infectant les 2/3 des échantillons analysés, l'un était à la fois résistant à la chloroquine (mutant *Pfcrt*) et à la pyriméthamine (triple mutant *Pfdhfr*), et l'autre était résistant à la chloroquine mais sensible à la pyriméthamine (sauvage *Pfdhfr*).

Enfin, les triples mutants *Pfdhfr* sont significativement plus fréquemment retrouvés dans la population de **Marseille** qu'à ANJ ou MAY. Ceci peut s'expliquer en partie par la différenciation génétique de ces populations. Mais la fréquence de l'association doubles + triples mutants apparaît également significativement plus élevée à MARS qu'en GC, populations pourtant génétiquement peu différenciées. Seule des pressions de sélection médicamenteuse contrastées peuvent expliquer cette différence, comme par exemple le proguanil, utilisé en chimioprophylaxie antipaludique (Savarine<sup>®</sup> ou Malarone<sup>®</sup>) par les Comoriens exclusivement de Marseille lorsqu'ils voyagent au pays (Ali Mohamed 2007). L'utilisation peut-être plus fréquente du Bactrim<sup>®</sup> par ces derniers pourrait également avoir favorisé la sélection des mutants *Pfdhfr* dans la population MARS.

## 4.5 CONCLUSION : APPLICATIONS DE CES DONNEES POUR LA LUTTE ANTIPALUDIQUE ET PERSPECTIVES

Cette étude d'épidémiologie moléculaire et de génétique des populations de *Plasmodium falciparum* montre donc une diversité génétique globalement basse, vraisemblablement en rapport avec l'isolement géographique de l'archipel et une transmission faible. En dépit des migrations humaines importantes entre les îles, cette étude met également à jour un schéma contrasté de différenciation génétique entre les populations étudiées, dont les applications pour la lutte peuvent être multiples.

La structuration génétique mise à jour entre les populations plasmodiales de Grande Comore, Mohéli, Anjouan et Mayotte, ainsi que les fréquences très différentes des marqueurs de résistance devrait ainsi inciter les autorités sanitaires comoriennes et françaises à **surveiller la chimiorésistance sur chaque île de manière séparée**. Avec la généralisation de l'utilisation des ACT et l'harmonisation à venir de la pression médicamenteuse, on peut néanmoins espérer pour l'avenir la possibilité d'une surveillance unique en Union des Comores.

En revanche, le brassage génétique entre les îles de Grande Comore, Mohéli et Anjouan, bien que modéré voire intense, devrait conduire à **éviter les mesures de lutte antipaludique limitées à une seule île**. Ainsi, les effets du programme d'élimination du paludisme à Mohéli mis en place fin 2007 seront sûrement de bien courte durée si les efforts concentrés sur le traitement rapide des cas et des nouveaux arrivants se relâchent, car les parasites reviendront en effet rapidement depuis les îles voisines. Au contraire, une action prolongée aboutira vraisemblablement à une situation hypo-endémo-épidémique similaire à Mayotte, imposant une lutte antivectorielle efficace afin de prévenir la survenue d'épidémies sur une population ayant peu à peu perdu son immunité.

Justement, Bandraboua représente actuellement un foyer de transmission résiduel à Mayotte. Et l'épidémiologie plasmodiale semble y être marquée par l'association d'une transmission tout de même faible, d'une importante pression médicamenteuse, d'un isolement génétique majeur et de microépidémies multiples. Les efforts devraient ainsi se concentrer sur la **prévention des épidémies à Bandraboua**, en renforçant la recherche et le traitement des gîtes larvaires dans les villages les plus touchés, ainsi que la détection et le traitement rapide des premiers cas.

Enfin, Marseille semble être un site sentinelle théoriquement pertinent pour la population plasmodiale de la Grande Comore uniquement. Mais les niveaux de chimiorésistance différents observés à MARS et GC, du fait de pressions de sélection

médicamenteuse contrastés, limitent pour l'instant l'intérêt de ce suivi à distance. Le passage progressivement généralisé de l'archipel au protocole artémether-luméfantrine, traitement non utilisable en chimioprophylaxie, devrait niveler les pressions médicamenteuses de ces populations plasmodiales et relancer la pertinence d'une surveillance de la chimiosensibilité excentrée à Marseille.

## 5 CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Les méthodes modernes d'épidémiologie moléculaire et de génétique des populations appliquées au *Plasmodium falciparum* sur l'archipel des Comores offrent, par la mesure de la diversité génétique et l'analyse de la structuration des populations parasites, des compléments d'information intéressants à l'épidémiologie "traditionnelle". En plus d'enrichir la réflexion générale sur la génétique des populations plasmodiales en fournissant un modèle d'étude pertinent et original, elles apportent une compréhension plus dynamique des processus en cours et permettent de proposer des recommandations très pratiques pour affiner au mieux les stratégies de surveillance et de lutte antipaludique.

Ainsi, malgré la proximité et la petite taille de ces quatre îles, la réalité épidémiologique du paludisme apparaît très contrastée sur l'archipel comorien. Les îles constituant l'Union des Comores (Grande Comore, Mohéli et Anjouan) sont marquées par une transmission stable et une morbidité palustre relativement importante, et leur population plasmodiale est globalement homogène génétiquement. La morbidité est en revanche beaucoup plus faible sur l'île de Mayotte, où les cas sont pour moitié d'origine importée depuis les îles voisines, et pour moitié autochtones et concentrés dans le foyer résiduel et isolé de Bandraboua selon une distribution microépidémique. Les niveaux de chimiorésistance, globalement élevés sur l'archipel, sont également contrastés entre les îles, du fait de pressions médicamenteuses différentes.

En complément des stratégies de lutte antipaludique actuellement mises en place, ces informations conduisent ainsi à recommander plus spécifiquement : (1) de surveiller la chimiorésistance séparément sur chaque île, (2) d'éviter les mesures de lutte antipaludique et les tentatives d'élimination limitées à une île de manière isolée, et (3) de renforcer la prévention des épidémies sur la commune de Bandraboua. L'arrivée récente des ACT, la large distribution des moustiquaires imprégnées et la tentative d'élimination du paludisme à Mohéli modifieront cependant à court terme cette situation épidémiologique. Ils devraient aussi relancer la pertinence d'une surveillance des résistances excentrée à Marseille, dont la représentativité génétique des parasites importés par la diaspora comorienne est pour l'instant limitée.

L'interprétation de ces informations de génétique des populations est néanmoins ardue et souffre de la carence des données d'épidémiologie classique disponibles aux Comores. Des études complémentaires de paludologie systématique et de génétique des populations doivent

être envisagées afin de confirmer ces conclusions et d'en apprécier l'évolution. Un nouvel état des lieux, basé cette fois sur un échantillonnage plus représentatif et plus large de la population des différentes îles ainsi que des côtes tanzanienne (Dar es Salam et Zanzibar) et malgache (Majunga) a d'ors et déjà été envisagé au sein d'un nouveau partenariat "marseillo-mahoro-comorien".

## BIBLIOGRAPHIE

### A

- Ali Mohamed A (2007). Etude descriptive rétrospective de 823 cas de paludisme importés des Comores à Marseille entre 2001 et 2005. Thèse d'Exercice de Médecine Générale. Marseille: Université de la Méditerranée, Faculté de Médecine de Marseille.
- Anderson TJ, Haubold B, Williams JT, Estrada-Franco JG, Richardson L, Mollinedo R, Bockarie M, Mokili J, Mharakurwa S, French N, Whitworth J, Velez ID, Brockman AH, Nosten F, Ferreira MU et Day KP (2000). Microsatellite markers reveal a spectrum of population structures in the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Mol Biol Evol* 17(10): 1467-82.
- Anderson TJ, Nair S, Jacobzone C, Zavai A et Balkan S (2003). Molecular assessment of drug resistance in *Plasmodium falciparum* from Bahr El Gazal province, Sudan. *Trop Med Int Health* 8(12): 1068-73.
- Anderson TJ, Su XZ, Bockarie M, Lagog M et Day KP (1999). Twelve microsatellite markers for characterization of *Plasmodium falciparum* from finger-prick blood samples. *Parasitology* 119 ( Pt 2): 113-25.
- Anglaret X (2001). Trimethoprim-sulfamethoxazole prophylaxis in sub-Saharan Africa. *Lancet* 358: 1027-8.
- Anthony TG, Conway DJ, Cox-Singh J, Matusop A, Ratnam S, Shamsul S et Singh B (2005). Fragmented population structure of *Plasmodium falciparum* in a region of declining endemicity. *J Infect Dis* 191: 1558-64.
- Ariey F, Randrianarivojosia M, Duchemin JB, Rakotondramarina D, Ouledi A, Robert V, Jambou R, Jahevitra M, Andrianantenaina H, Raharimalala L et Mauclere P (2002). Mapping of a *Plasmodium falciparum* pfcrt K76T mutation: a useful strategy for controlling chloroquine resistance in Madagascar. *J Infect Dis* 185(5): 710-2.
- ARMA (Atlas du Risque de la Malaria en Afrique). Accessible à: <http://www.mara.org.za/>
- Ayala D, Goff GL, Robert V, de Jong P et Takken W (2006). Population structure of the malaria vector *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae) in Madagascar and Comoros. *Acta Trop* 97(3): 292-300.

### B

- Baird JK (2005). Effectiveness of antimalarial drugs. *N Engl J Med* 352(15): 1565-77.
- Barnes KI, Durrheim DN, Little F, Jackson A, Mehta U, Allen E, Dlamini SS, Tsoka J, Bredenkamp B, Mthembu DJ, White NJ et Sharp BL (2005). Effect of artemether-lumefantrine policy and improved vector control on malaria burden in KwaZulu-Natal, South Africa. *PLoS Med* 2(11): e330.
- Bhattarai A, Ali AS, Kachur SP, Martensson A, Abbas AK, Khatib R, Al-Mafazy AW, Ramsan M, Rotllant G, Gerstenmaier JF, Molteni F, Abdulla S, Montgomery SM, Kaneko A et Bjorkman A (2007). Impact of artemisinin-based combination therapy and insecticide-treated nets on malaria burden in Zanzibar. *PLoS Med* 4(11): e309.
- Blanchy S et Benthein F (1989). Chimiosensibilité *in vivo* de *Plasmodium falciparum* en République Fédérale Islamique des Comores. *Bull Soc Pathol Exot* 82(4): 493-502.
- Blanchy S, Julvez J et Mouchet J (1999). Stratification épidémiologique du paludisme dans l'archipel des Comores. *Bull Soc Pathol Exot* 92(3): 177-84.

- Bogreau H, Renaud F, Bouchiba H, Durand P, Assi SB, Henry MC, Garnotel E, Pradines B, Fusai T, Wade B, Adehossi E, Parola P, Kamil MA, Puijalon O et Rogier C (2006). Genetic diversity and structure of African *Plasmodium falciparum* populations in urban and rural areas. *Am J Trop Med Hyg* 74(6): 953-9.
- Bosman A et Mendis KN (2007). A major transition in malaria treatment: the adoption and deployment of artemisinin-based combination therapies. *Am J Trop Med Hyg* 77(Suppl 6):193-7.
- Boutin JP, Pradines B, Pages F, Legros F, Rogier C et Migliani R (2005). Epidémiologie du paludisme. *Rev Prat* 55(8): 833-40.

## C

- Caminade P (2003). Comores-Mayotte : une histoire néocoloniale. Dossiers Noirs, numéro 19. Marseille: Agone.
- Carnevale P, Robert V, Molez J et D. B (1984). Epidémiologie générale : faciès épidémiologiques des paludismes en Afrique Subsaharienne. *Etudes Méd* 3: 123-33.
- Commission des Lois Constitutionnelles et de la Législation et de l'Administration Générale de la République Française (2006). Rapport d'information parlementaire sur la situation de l'immigration à Mayotte. Paris: Assemblée Nationale Française Accessible à: <http://www.assemblee-nationale.fr>
- Conway DJ (2007). Molecular epidemiology of malaria. *Clin Microbiol Rev* 20(1): 188-204.
- Cornuet JM et Luikart G (1996). Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144(4): 2001-14.
- Cox-Singh J, Davis TM, Lee KS, Shamsul SS, Matusop A, Ratnam S, Rahman HA, Conway DJ et Singh B (2008). Plasmodium knowlesi malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. *Clin Infect Dis* 46(2): 165-71.
- Craig MH, Snow RW et le Sueur D (1999). A climate-based distribution model of malaria transmission in sub-Saharan Africa. *Parasitol Today* 15(3): 105-11.

## D

- Direche-Slimani K et Le Houérou F (2002). Les Comoriens à Marseille. D'une mémoire à l'autre. Paris: Editions Autrement.
- Direction Nationale du Recensement de l'Union des Comores (2005). Principaux résultats du recensement général de la population et de l'habitat du 15 septembre 2003. Moroni, Union des Comores: Ministère du Plan, de l'Aménagement du Territoire, de l'Energie et de l'Urbanisme. Commissariat Général au Plan.
- Djimde A, Doumbo OK, Cortese JF, Kayentao K, Doumbo S, Diourte Y, Dicko A, Su XZ, Nomura T, Fidock DA, Wellems TE, Plowe CV et Coulibaly D (2001). A molecular marker for chloroquine-resistant falciparum malaria. *N Engl J Med* 344(4): 257-63.

## E, F

- Eichenlaub D et Pohle HD (1980). A case of chloroquine-resistant (R1) falciparum malaria from the East African Comoros Islands (author's transl). *Infection* 8(2): 90-2.
- El-Amine Ali Halidi M (1995). Paludisme à Mayotte : passé, présent, futur. *Cahiers Santé* 5(6): 362-7.
- Enserink M (2008). Malaria. Signs of drug resistance rattle experts, trigger bold plan. *Science* 322(5909): 1776.

- Feachem R et Sabot O (2008). A new global malaria eradication strategy. *Lancet* 371(9624): 1633-5.
- Feillet N, Agnamey P, Basseur P et Druilhe P (1993). Résistance *in vivo* à la chloroquine de *Plasmodium falciparum* à Anjouan (Comores). *Bull Soc Pathol Exot* 86(1): 48-51.
- Florence S, Lebas J, Lesieur S et Chauvin P (2008). Santé et migration à Mayotte. Rapport final à l'Agence française de développement (AFD). Institut national de la santé et de la recherche médicale. Équipe de recherche sur les déterminants sociaux de la santé et du recours aux soins (DS3). UMRS 707. Accessible à: <http://www.gisti.org/spip.php?article1176>

## G

- Gardner MJ, Hall N, Fung E, White O, Berriman M, Hyman RW, Carlton JM, Pain A, Nelson KE, Bowman S, Paulsen IT, James K, Eisen JA, Rutherford K, Salzberg SL, Craig A, Kyes S, Chan MS, Nene V, Shallom SJ, Suh B, Peterson J, Angiuoli S, Perlea M, Allen J, Selengut J, Haft D, Mather MW, Vaidya AB, Martin DM, Fairlamb AH, Fraunholz MJ, Roos DS, Ralph SA, McFadden GI, Cummings LM, Subramanian GM, Mungall C, Venter JC, Carucci DJ, Hoffman SL, Newbold C, Davis RW, Fraser CM et Barrell B (2002). Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Nature* 419(6906): 498-511.
- Gil JP, Nogueira F, Stromberg-Norklit J, Lindberg J, Carrolo M, Casimiro C, Lopes D, Arez AP, Cravo PV et Rosario VE (2003). Detection of atovaquone and Malarone resistance conferring mutations in *Plasmodium falciparum* cytochrome b gene (cytb). *Mol Cell Probes* 17(2-3):85-9.
- Gisti (2006). Les droits des étrangers à Mayotte. L'entrée et le séjour. La protection sociale. Etude effectuée par le Gisti pour le compte de « Médecins du Monde ». Gisti. Accessible à: [http://www.gisti.org/IMG/pdf/MDM\\_-\\_Etude\\_sur\\_Mayotte\\_-\\_Gisti\\_juillet\\_2006.pdf](http://www.gisti.org/IMG/pdf/MDM_-_Etude_sur_Mayotte_-_Gisti_juillet_2006.pdf)
- Goudet J (2002). FSTAT (version 2.9.3.2), a Program to Estimate and Test Population Genetics Parameters.
- Greenwood BM, Bojang K, Whitty CJM et Targett GAT (2005). Malaria. *Lancet* 365: 1487-98.

## H

- Halifa A (2007). De Marseille aux Comores. Entrée en politique d'une jeunesse issue de l'immigration. Paris: Editions de la Lune.
- Hay IS, Guerra CA, Tatem AJ, Noor AM et Snow RW (2004). The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future. *Lancet Infect Dis* 4: 327-36.
- Holmgren G, Gil JP, Ferreira PM, Veiga MI, Obonyo CO et Björkman A (2006). Amodiaquine resistant *Plasmodium falciparum* malaria *in vivo* is associated with selection of pfert 76T and pfmdr1 86Y. *Infect Genet Evol* 6(309-314).
- Hyde JE (2005). Drug-resistant malaria. *Trends Parasitol* 21(11): 494-8.

## I

- Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques - Mayotte (2007). Recensement général de la population de Mayotte : 186 452 habitants au 31 juillet 2007. *Insee Infos*(32).

Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques - Mayotte, Bacheré H et Frouté O (2003). Mayotte : recensement de la population du 30 juillet 2002. *INSEE PREMIÈRE*(940).

## J

- Julvez J (1995). Histoire du paludisme insulaire dans l'Océan Indien (partie sud-ouest). Une approche socio-épidémiologique. *Cahiers Santé* 5(6): 353-8.
- Julvez J et Blanchy S (1988). Le paludisme dans les îles de l'archipel des Comores. Elements historiques et géophysiques, considérations épidémiologiques. *Bull Soc Pathol Exot Filiales* 81(5): 847-53.
- Julvez J et Galtier J (1989). Etude *in vivo* de la chloroquinorésistance du paludisme à *Plasmodium falciparum* à Mayotte. *Med Trop (Mars)* 49(1): 63-5.
- Julvez J, Michault A et Ali Halidi M (1997). Evaluation récente de l'épidémiologie du paludisme à Mayotte, archipel des Comores. *Med Trop (Mars)* 57((3 suppl)): 79.

## K

- Kiszewski A, Mellinger A, Spielman A, Malaney P, Ehrlich Sachs S et Sachs J (2004). A global index presenting the stability of malaria transmission. *Am J Trop Med Hyg* 70(5): 486-98.
- Kublin JG, Dzinjalama FK, Kamwendo DD, Malkin EM, Cortese JF, Martino LM, Mukadam RA, Rogerson SJ, Lescano AG, Molyneux ME, Winstanley PA, Chimpeni P, Taylor TE et Plowe CV (2002). Molecular markers for failure of sulfadoxine-pyrimethamine and chlorproguanil-dapsone treatment of *Plasmodium falciparum* malaria. *J Infect Dis* 185(3): 380-8.

## L

- Lafont (1905). Mohéli. *Ann Hyg Med Col* 8: 497-521.
- Le Bras J, Simon F, Ramanamirija JA, Calmel MB, Hatin I, Deloron P, Porte J, Marchais H, Clause JL, Biaud JM et et al. (1987). Sensibilité de *Plasmodium falciparum* aux quinoléines et stratégies thérapeutiques : comparaison de la situation en Afrique et à Madagascar entre 1983 et 1986. *Bull Soc Pathol Exot* 80(3 Pt 2): 477-89.
- Le Mabec T et Thouillot F (2008). La persistance du paludisme à Bandraboua à Mayotte: étude du foyer. Mémoire de Master 2, Surveillance et Contrôle des Maladies Tropicales. Bordeaux: Université Bordeaux 2 Victor Segalen, Institut de Santé Publique d'Epidémiologie et de Développement.
- Leong PT, Elissa N, Ouledi A, Arie F, Duchemin JB et Robert V (2003). Caractérisation moléculaire des moustiques du complexe *Anopheles gambiae* à Mayotte et en Grande Comore. *Parasite* 10(3): 273-6.
- Lepère JF et Macarry A (2004). Le diagnostic et le traitement des accès palustres dans un dispensaire rural à Mayotte (Archipel des Comores) en 2002. *Sante* 14(1):5-10.
- Lines J, Whitty CJM et Hanson K (2007). Prospects for eradication and elimination of malaria: a technical briefing for DFID. London: London School of Hygiene & Tropical Medicine. Accessible à:
- Luikart G, Allendort FW, Cornuet JM et Sherwin WB (1998). Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *J Hered* 89(3): 238-47.

## M

- MacDonald G (1952). The analysis of equilibrium in malaria. *Trop Dis Bull* 49: 813–29.
- Malamba SS, Mermin J, Reingold A, Lule JR, Downing R, Ransom R, Kigozi A, Hunt BM, Hubbard A, Rosenthal PJ et Dorsey G (2006). Effect of cotrimoxazole prophylaxis taken by human immunodeficiency virus (HIV)–infected persons on the selection of sulfadoxine-pyrimethamine–resistant malaria parasites among HIV–uninfected household members. *Am J Trop Med Hyg* 75(3): 375-80.
- Menard D, Randrianarivo-Solofoniaina AE, Ahmed BS, Jahevitra M, Andriantsoanirina V, Rasolofomanana JR et Rabarijaona LP (2007). Drug-resistant malaria parasites introduced into Madagascar from Comoros Islands. *Emerg Infect Dis* 13(11): 1759-62.
- Mendis K, Rietveld A, Warsame M, Bosman A, Greenwood B et Wernsdorfer WH (2009). From malaria control to eradication: The WHO perspective. *Trop Med Int Health* 14(7): 802-9.
- Metselaar D et Van Theil PM (1959). Classification of malaria. *Trop Geogr Malaria* 11: 157-61.
- Michalon T (2009). L'archipel des sultans batailleurs. *Le Monde Diplomatique*: 16-7.
- Ministère Français des Affaires Etrangères. (2008). Présentation de l'Union des Comores. Données générales. Accessible à: [http://www.diplomatie.gouv.fr/fr/pays-zones-geo\\_833/comores\\_403/presentation-union-comores\\_1344/donnees-generales\\_1893.html#sommaire\\_2](http://www.diplomatie.gouv.fr/fr/pays-zones-geo_833/comores_403/presentation-union-comores_1344/donnees-generales_1893.html#sommaire_2)
- Mouchet J, Carnevale P, Coosemans M, Julvez J, Manguin S, Richard-Lenoble D et Sircoulon J (2004). Biodiversité du paludisme dans le monde. Paris: John Libbey Eurotext.
- Mu J, Awadalla P, Duan J, McGee KM, Joy DA, McVean GA et Su XZ (2005). Recombination hotspots and population structure in *Plasmodium falciparum*. *PLoS Biol* 3(10): e335.

## N, O

- Nair S, Brockman A, Paiphun L, Nosten F et Anderson TJ (2002). Rapid genotyping of loci involved in antifolate drug resistance in *Plasmodium falciparum* by primer extension. *Int J Parasitol* 32(7): 852-8.
- Nei M (1978). Estimation of Average Heterozygosity and Genetic Distance from a Small Number of Individuals. *Genetics* 89(3): 583-90.
- Noedl H, Se Y, Schaefer K, Smith BL, Socheat D et Fukuda MM (2008). Evidence of artemisinin-resistant malaria in western Cambodia. *N Engl J Med* 359(24): 2619-20.
- Nyarango PM, Gebremeskel T, Mebrahtu G, Mufunda J, Abdulmumini U, Ogbamariam A, Kosia A, Gebremichael A, Gunawardena D, Ghebrat Y et Okbaldet Y (2006). A steep decline of malaria morbidity and mortality trends in Eritrea between 2000 and 2004: the effect of combination of control methods. *Malar J* 5: 33.
- Orlandi-Pradines E, Penhoat K, Durand C, Pons C, Bay C, Pradines B, Fusai T, Josse R, Dubrous P, Meynard JB, Durand JP, Migliani R, Boutin JP, Druilhe P et Rogier C (2006). Antibody responses to several malaria pre-erythrocytic antigens as a marker of malaria exposure among travelers. *Am J Trop Med Hyg* 74(6): 979-85.

## P

- Parola P, Gazin P, Pradines B, Parzy D, Delmont J et Brouqui P (2004). Marseille: a surveillance site for malaria from the Comoros Islands. *J Travel Med* 11(3): 184-6.

- Parola P, Minodier P, Soula G, Jaffre Y, Badiaga S, Retornaz K, Garnier JM, Delmont J, Parzy D et Brouqui P (2005). Le paludisme d'importation à l'Hôpital-Nord de Marseille en 2001-2003 : étude prospective de 352 cas. *Med Mal Infect* 35(10): 482-8.
- Parola P, Pradines B, Gazin P, Keundjian A, Silai R et Parzy D (2005). Chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* importé des Comores à Marseille en 2002-2003. *Med Mal Infect* 35(10): 489-91.
- Parola P, Pradines B, Simon F, Carlotti MP, Minodier P, Ranjeva MP, Badiaga S, Bertaux L, Delmont J, Morillon M, Silai R, Brouqui P et Parzy D (2007). Antimalarial drug susceptibility and point mutations associated with drug resistance in 248 *Plasmodium falciparum* isolates imported from Comoros to Marseille, France in 2004-2006. *Am J Trop Med Hyg* 77(3): 431-7.
- Petrarca V, Sabatinelli G, Di Deco MA et Papakay M (1990). The *Anopheles gambiae* complex in the Federal Islamic Republic of Comoros (Indian Ocean): some cytogenetic and biometric data. *Parassitologia* 32(3): 371-80.
- Pettinelli F, Pettinelli ME, Eldin de Pecoulas P, Millet J, Michel D, Brasseur P et Druilhe P (2004). Short report: High prevalence of multidrug-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in the French territory of Mayotte. *Am J Trop Med Hyg* 70(6): 635-7.
- Piry S, Luikart G et Cornuet JM (1999). BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *J Hered* 90: 502-3.
- Price RN, Uhlemann AC, Brockman A, McGready R, Ashley E, Phaipun L, Patel R, Laing K, Looareesuwan S, White NJ, Nosten F et Krishna S (2004). Mefloquine resistance in *Plasmodium falciparum* and increased *pfmdr1* gene copy number. *Lancet* 364(9432):438-47.
- Programme des Nations Unies pour le Développement (PNUD). (2008). Comoros. The Human Development Index - going beyond income Human Development Reports Accessible à: [http://hdrstats.undp.org/2008/countries/country\\_fact\\_sheets/cty\\_fs\\_COM.html](http://hdrstats.undp.org/2008/countries/country_fact_sheets/cty_fs_COM.html)
- Programme des Nations Unies pour le Développement (PNUD) et Union des Comores (2005). Union des Comores. Objectifs du Millénaire pour le Développement. Rapport national 2005. Moroni: Système des Nations Unies en Union des Comores. Accessible à: <http://www.km.undp.org/omd.htm>
- Programme National de Lutte contre le Paludisme (2007). Rapport d'Activité 2006. Moroni, Union des Comores: Direction Nationale de la Santé.
- Programme National de Lutte contre le Paludisme (2008). Rapport d'activité de lutte contre le paludisme, année 2007 (version provisoire). Direction de la Lutte contre les Endémies et Epidémies.
- Prothero RM (1961). Population movements and problems of malaria eradication in Africa. *Bull World Health Organ* 24: 405-25.

## Q

- Quatresous I, Jeannel D et Sissoko D (2005). Épidémiologie du paludisme à Mayotte. État des lieux 2003-2004 et propositions. Saint-Maurice, France: Institut de Veille Sanitaire. Ministère de la Santé et des Solidarités. République Française. Accessible à: <http://www.invs.sante.fr/recherche/index2.asp?txtQuery=mayotte&Submit.x=0&Submit.y=0>
- Quatresous I, Pettinelli F, Le Bras J, Solet JL, Lepère JF, Giry C et Paquet C (2007). Que sait-on de la chimiorésistance du paludisme à Mayotte, France en 2007 ? *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire* 48-49: 409-12.

## R

- Rabenjarson E, Keundjian A, Ringwald P, Fadat G, Doury JC et Le Bras J (1992). Chimiosensibilité du paludisme d'importation à *Plasmodium falciparum* en France en 1991. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*(28): 128-32.
- Randrianarivelojosa M, Raherinjafy RH, Migliani R, Mercereau-Puijalon O, Arieu F et Bedja SA (2004). Plasmodium falciparum resistant to chloroquine and to pyrimethamine in Comoros. *Parasite* 11(4): 419-23.
- Randrianarivelojosa M, Randrianasolo L, Rendremanana RV, Randriamanantena A, Ratsimbaoa A et Rakotoson JD (2004). Susceptibility of *Plasmodium falciparum* to the drugs used to treat severe malaria (quinine) and to prevent malaria (mefloquine, cycloguanil) in Comoros Union and Madagascar. *S Afr Med J* 94(1):47-51.
- Randrianarivelojosa M, Sahondra-Harisoa JL, Raharimalala LA, Raveloson A, Mauclere P et Arieu F (2003). Évaluation *in vitro* de la sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine dans la région de l'Océan Indien dans le cadre du réseau d'étude de la résistance (RER). *Sante* 13(2): 95-100.
- Rannala B et Mountain JL (1997). Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(17): 9197-201.
- Receveur MC, Roussin C, Vatan R, de Montera AM, Sissoko D et Malvy D (2004). Bilan du paludisme à Mayotte. Epidémiologie, diagnostic, prévention et traitement. *Bull Soc Pathol Exot* 97(4):265-7.
- Robert V (2003). Rapport de mission entomologique à Mohéli (Mission des Comores) du 26 au 29 février 2003. Institut Pasteur de Madagascar.
- Roberts L et Enserink M (2007). Malaria. Did they really say... eradication? *Science* 318(5856): 1544-5.
- Rogier C, Pradines B, Bogreau H, Koeck JL, Kamil MA et Mercereau-Puijalon O (2005). Malaria epidemic and drug resistance, Djibouti. *Emerg Infect Dis* 11(2): 317-21.
- Roll Back Malaria (2008). The global malaria action plan. For a malaria-free world. Accessible à: <http://www.rollbackmalaria.org/gmap/index.html>
- Roll Back Malaria, World Health Organization et UNICEF (2005). World Malaria Report 2005. Geneva: WHO and UNICEF. Accessible à: <http://rbm.who.int/wmr2005>
- Roper C, Pearce R, Nair S, Sharp B, Nosten F et Anderson T (2004). Intercontinental spread of pyrimethamine-resistant malaria. *Science* 305(5687): 1124.
- Rousset F (1997). Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics* 145: 1219-28.
- Roussin JM, Huart V, Lepere JF, Le Bras MJ, Roussin C et Le Bras J (2002). Rapid detection of malaria and *P. falciparum* chemoresistant genotypes in Mayotte, 2001. *Presse Med* 31(28): 1312.

## S

- Secrétariat Général du Comité Interministériel de Contrôle de l'Immigration (2007). Rapport au Parlement. Les orientations de la politique de l'immigration. Paris: Assemblée Nationale Française. Accessible à: <http://www.ladocumentationfrancaise.fr/rapports-publics/074000765/index.shtml>
- Silai R, Moussa M, Abdalli Mari M, Astafieva-Djaza M, Hafidhou M, Oumadi A, Randrianarivelojosa M, Said Ankili A, Said Ahmed B, Gayibor AH, Arieu F et Ringwald P (2007). Surveillance de la chimiosensibilité du paludisme dû à

*Plasmodium falciparum* et changement de politique dans l'Union des Comores. *Bull Soc Pathol Exot* 100(1): 6-9.

Solet JL, Balleydier E, Quatresous I, Sanquer MA, Gabrié P, Elissa N, Achirafi A et Pierre V (2007). Situation épidémiologique du paludisme à Mayotte, France en 2005 et 2006. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*(48-49): 407-9.

Su X, Hayton K et Wellems TE (2007). Genetic linkage and association analyses for trait mapping in *Plasmodium falciparum*. *Nat Rev Genet* 8(7): 497-506.

Su X et Wellems TE (1996). Toward a high-resolution *Plasmodium falciparum* linkage map: polymorphic markers from hundreds of simple sequence repeats. *Genomics* 33(3): 430-44.

## T, U

Tall A, Rabarijaona LP, Robert V, Bedja SA, Ariey F et Randrianarivelojosia M (2007). Efficacy of artesunate plus amodiaquine, artesunate plus sulfadoxine-pyrimethamine, and chloroquine plus sulfadoxine-pyrimethamine in patients with uncomplicated *Plasmodium falciparum* in the Comoros Union. *Acta Trop* 102(3): 176-81.

Tall A, Raharimalala LA, Lepere JF, Receveur MC, Baur F, Rabarijaona LP, Randrianarivelojosia M, Macarry A, Roussin C, Roussin JM, Robert V et Ariey F (2004). Efficacy of artemether-lumefantrine treatment in patients with acute uncomplicated *Falciparum* malaria in Mayotte, a French collectivity of the Comoros Archipelago. *Parasite* 11(3): 325-8.

Tall A, Raharimalala LA, Rabarijaona LP, Ariey F et Randrianarivelojosia M (2002). Etude de l'efficacité des associations artemether+ lumefantrine et chloroquine + sulfadoxinepyriméthamine sur l'accès palustre non compliqué à Mayotte. (*non publié*).

Tchen J, Ouledi A, Lepere JF, Ferrandiz D et Yvin JL (2006). Epidémiologie et prévention du paludisme dans les îles du Sud-Ouest de l'Océan Indien. *Med Trop (Mars)* 66(3): 295-301.

The World Bank Group (2008). Comoros at a glance. Accessible à: <http://web.worldbank.org/WBSITE/EXTERNAL/COUNTRIES/AFRICAEXT/COMOROSEXTN/0,,menuPK:349963~pagePK:141132~piPK:141109~theSitePK:349937,00.html>

Trape JF (2001). The public health impact of chloroquine resistance in Africa. *Am J Trop Med Hyg* 64(1-2 Suppl): 12-7.

United Nation Population Division. (2007). World Population Prospects: Population Database: The 2007 Revision Accessible à: <http://esa.un.org/unpp/p2k0data.asp>

## W

Weir B et Cockerham C (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-70.

White NJ (2008). *Plasmodium knowlesi*: the fifth human malaria parasite. *Clin Infect Dis* 46(2): 172-3.

Whitty CJ et Jaffar S (2002). *Plasmodium falciparum* cross resistance. *Lancet* 359: 80.

Wikipedia - L'Encyclopédie Libre. Archipel des Comores (2009). Accessible à: [http://fr.wikipedia.org/wiki/Archipel\\_des\\_Comores](http://fr.wikipedia.org/wiki/Archipel_des_Comores)

Wongsrichanalai C et Meshnick SR (2008). Declining artesunate-mefloquine efficacy against *falciparum* malaria on the Cambodia-Thailand border. *Emerg Infect Dis* 14(5): 716-9.

Wongsrichanalai C, Pickard AL, Wernsdorfer WH et Meshnick SR (2002). Epidemiology of drug-resistant malaria. *Lancet Infect Dis* 2(4): 209-18.

- Wootton JC, Feng X, Ferdig MT, Cooper RA, Mu J, Baruch DI, Magill AJ et Su XZ (2002). Genetic diversity and chloroquine selective sweeps in *Plasmodium falciparum*. *Nature* 418(6895): 320-3.
- World Health Organization (2005). Susceptibility of Plasmodium falciparum to antimalarial drugs : report on global monitoring : 1996-2004. Geneva: WHO. Accessible à: <http://apps.who.int/malaria/whomalariapublications.htm>
- World Health Organization. (2006). Country health system fact sheet 2006. Comoros Accessible à: <http://www.who.int/whosis/en/>
- World Health Organization (2006). The Africa Malaria Report 2006. Geneva: WHO. Accessible à: <http://www.afro.who.int/malaria/publications/index.html>
- World Health Organization (2007). Malaria elimination. A field manual for low and moderate endemic countries. Geneva: WHO. Accessible à: <http://apps.who.int/malaria/whomalariapublications.htm>
- World Health Organization (2008). World malaria report 2008. Geneva: WHO. Accessible à: <http://apps.who.int/malaria/wmr2008/>
- World Health Organization Regional Office for Africa. (2004). Malaria country Profiles. Comoros Accessible à: <http://www.afro.who.int/malaria/country-profile/>
- Wright S (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.

## ANNEXES

**Annexe 1 – Recueil de échantillons sanguins sur buvard** (ici Mme Ramatou SILAÏ du PNLP Comores), et exemple de fiche de renseignements accompagnant les échantillons.



N° échant : <b>D</b> ....		Date : ... / ... / ...
<b>MAYOTTE</b>		
Déplacements depuis 1 an hors de l'île ?		
Oui	Non	Date du retour :
	Anjouan	... / ... / ...
	Mohéli	... / ... / ...
	Grande Comore	... / ... / ...
	.....	... / ... / ...
	.....	... / ... / ...
Crises de paludisme depuis 1 mois ?		
Non		
Oui :	Nom des traitements	Dates
	.....	... / ... / ...
	.....	... / ... / ...
	.....	... / ... / ...
Sexe : H F		Age : .....
Goutte épaisse positive ?		Oui Non
Parasitémie : .....		

### Annexe 2A - Séquences des amorces et protocoles d'amplification des 6 microsatellites de *Plasmodium falciparum*

Loci	GenBank Accession n°	Size (bp)	Chr	Primer ID	Primer sequences (first round and second round of nested PCR) (5' to 3')	Ta, °C	PCR condition n°
<i>Pf2689</i>	G37854	86	12	Pf2689 PCR1	TTA ACC TTA TAG CTT CAG AG TCT TCT TCA CTT ACA TTA AAG	56	1A
				Pf2689 PCR2	TAT GCA CAC ACG TTT CTA 6-FAM—CTC CAA GGC ATT CAC GTA	54	2B
<i>7A11</i>	G38831	92	7	7A11 PCR1	ACA TAT TAT TTC TTC GTA A TTA TCT CTT CTC TGA GTA A	53	1B
				7A11 PCR2	ATG TGT AAG GAG ATA GTA TA 6-FAM—CAA CTT TCT CTT TTT AAA TAT TAC	54	2B
<i>C4M79</i>	G42726	220	3	C4M69 PCR1	TTT TGT AGG AAC ATG TAA GGA GAC TAG CTC TAC AAT A	53	1B
				C4M69 PCR2	TTT ATA TCA AGA ATG ACA ACC NED—TAG CAA CAA TAA ACA ATA TGG	57	2B
<i>Pf2802</i>	G37818	136	5	Pf2802 PCR1	GAT GCT TAG TTT AAT CTT ATA ACA AAT A GAC TTA CTT TCT TAC ATA AAA TCA TTA AC	60	1B
				Pf2802 PCR2	GTA TAA AAG GAA ATA CCT A NED—CAG ACT ATC TTA AGG GAA	52	2B
<i>TRAP</i>	G37858	134	13	TRAP PCR1	ATA AAA CAA ATT ACC GAG TA ACA ATT CAG ATT ACC TGA A	56	1A
				TRAP PCR2	CAT AAT AGT AGC AAG AGA PET—GAT TAT ATA TAG CGA TTT AC	49	2B
<i>C4M69</i>	G37956	362	4	C4M69 PCR1	AGA AAT GGA GAT AAA CTA TTA CAA CTA AGC GCA CGA GAA CAA TC	60	1A
				C4M69 PCR2	GAA ATG GAG ATA AAC TAT TAC VIC—AAT TAC ACA ACA GAT GTG AA	61	2A

Size in basepairs for 3D7 clone. Chr, chromosome. Primer sequences are given for reactions n°1 (first round) and n°2 (second round) of the nested PCR and are 5'→3' with fluorescent label (VIC, NED, 6-FAM, PET) and annealing temperature (Ta, °C).

The mix for **PCR conditions n°1** (20 µL) contained 2 µL DNA template, 1x buffer, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200µM each dNTP, 0.25 µM each primer and 0.12 U *Taq* polymerase (Eurogentec, Seraing, Belgium). Thermocycling was performed in a Biometra (Goettingen, Germany) 96-well T3 thermocycler. Program for **PCR condition 1A** was : initial denaturation at 94°C for 2 minutes; 45 cycles at 94°C for 30 seconds, the locus-specific annealing temperature for 30 seconds and 72°C for 40 seconds ; final elongation step at 72°C for 10 minutes. Program for **PCR condition 1B** was: initial denaturation at 94°C for 3 minutes; 45 cycles at 94°C for 40 seconds, the locus-specific annealing temperature for 50 seconds and 72°C for 50 seconds ; final elongation step at 72°C for 10 minutes.

The mix for **PCR conditions n°2** (20 µL) contained 2 µL of PCR product n°1, 1x buffer, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200µM each dNTP, 0.5 µM of each primer and 0.12 units *Taq* polymerase (Eurogentec, Seraing, Belgium). Program for **PCR condition n°2A** was: initial denaturation at 94°C for 2 minutes; 10 cycles at 94°C for 30 seconds, 65°C for 30 seconds and 72°C for 30 seconds ; 35 cycles at 94°C for 30 seconds, 61°C for 30 seconds and 72°C for 30 seconds ; final elongation step at 60°C for 30 minutes. Program for **PCR condition n°2B** was: initial denaturation at 94°C for 2 minutes; 45 cycles at 94°C for 30 seconds, the annealing temperature for 30 seconds and 72°C for 30 seconds ; final elongation step at 60°C for 30 minutes.

### Annexe 2B - Séquences des amorces et protocoles d'amplification pour le génotypage du codon 76 du gène *Pfcr1* de *P. falciparum*

Loci	Locus information	Primer ID	Primer sequences (first and second rounds) (5' to 3')	PCR condition n°
<i>Pfcr1</i>	Chr 7	Pfcr1 PCR1	GTT CTT GTC TTG GTA AAT GT	1
		Pfcr1 PCR2	CCA ATT TTG TTT AAA GTT CT	
			GTT CTT GTC TTG GTA AAT GT	2
			6-FAM—TAA ATG TGC TCA TGT GTT TA	

Size in basepairs for 3D7 clone. Chr, chromosome. Primer sequences are given for reactions n°1 (first round) and n°2 (second round) of the semi-nested PCR and are 5'→3' with fluorescent label (6-FAM).

The mix for **PCR conditions n°1** (10 µL) contained 1 µL of DNA template, 1x buffer, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200µM each dNTP, 0.25 µM of each primer and 0.04 units *Taq* polymerase (Eurogentec, Seraing, Belgium). Thermocycling was performed in a Biometra (Goettingen, Germany) 96-well T3 thermocycler. Program for PCR condition n°1 was: initial denaturation at 94°C for 2 minutes; 10 cycles at 94°C for 20 seconds, 50°C for 20 seconds and 60°C for 30 seconds ; 35 cycles at 94°C for 20 seconds, 45°C for 20 seconds and 60°C for 30 seconds ; final elongation step at 60°C for 2 minutes.

The mix for **PCR conditions n°2** (10 µL) contained 1 µL of PCR product n°1, 1x buffer, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200µM each dNTP, 1.0 µM of each primer and 0.075 units *Taq* polymerase (Eurogentec, Seraing, Belgium). Program for PCR condition n°2 was: initial denaturation at 94°C for 2 minutes ; 10 cycles at 94°C for 20 seconds, 50°C for 20 seconds and 60°C for 30 seconds ; 35 cycles at 94°C for 20 seconds, 45°C for 20 seconds and 60°C for 30 seconds ; final elongation step at 60°C for 2 minutes.

For **digestion**, the mix (30 µL) contained 1 µL products from the second round of semi-nested PCR, 0.3 U *ApoI* (New England Biolabs), 1x Buffer n°3 and 1x bovine serum albumin. Digestion conditions were 50°C for 3 h.

### Annexe 2C - Séquences des amorces et protocoles d'amplification pour le génotypage des gènes *Pfdhfr* et *Pfdhps* de *P. falciparum*

Loci	Loci info	Primer ID	Primer sequences (first and second rounds, SNaPshot reaction) (5' to 3')	PCR condition n°	Primer concentration (µM)	
<i>Pfdhfr</i>	Chr 4	<i>Pfdhfr</i> primers (template)				
		dhfr PCR1	TTC TCC TTT TTA TGA TGG AAC AAG T ATA TTT GAA AAT CAT TTG GAT GTA TAG	1A	0.25	
		dhfr PCR2	ACG TTT TCG ATA TTT ATG C TCA CAT TCA TAT GTA CTA TTT ATT C	2A	0.5	
		<i>Pfdhfr</i> primers (SNaPshot)				
		dhfr51-f	AGG AGT ATT ACC ATG GAA ATG TA		0.345	
		dhfr16-r	gactgactCTC ATT TTT GCT TTC A AC CTT ACA ACA T		0.18	
		dhfr108-f	gactgactACA AAA TGT TGT AGT TAT GGG AAG AAC AA		0.22	
		dhfr164-r	ctgactgactgactgactAAT TCT TGA TAA ACA ACG GAA CCT CCT A		0.3	
		dhfr59-r	ctgactgactgactgactTGA TTC ATT CAC ATA TGT TGT AAC TGC AC		0.224	
<i>Pfdhps</i>	Chr 8	<i>Pfdhps</i> primers (template)				
		dhps PCR1	GATTCCTTTTCAGATGGAGG TTCCTCATGTAATTCATCTGA	1B	0.25	
		dhps PCR2	GTT GAA CCT AAA CGT GCT GT TTC ATC ATG TAA TTT TTG TTG TG	2B	0.5	
		<i>Pfdhps</i> primers (SNaPshot)				
		dhps613-r	TTG ATC ATT CAT GCA ATG GG		2.406	
		dhps540-f	gactGAG GAA ATC CAC ATA CAA TGG AT TAA GAG TTT AAT AGA TTG ATC ATG TTT CTT C		0.535	
		dhps581-r	gactgactAGT GTT ATA GAT ATA GGT GGA GAA TCC		0.685	
		dhps436(1)-r	gactgactgactgactTGG ATT AGG TAT AAC AAA AAG GAI CA		0.766	
		dhps437-r	gactgactgactgactTTTT TTG GAT TAG GTA TAA CAA AAG GA		1.115	

Size in basepairs for 3D7 clone. Chr, chromosome. Primer sequences are given for reactions n°1 (first round) and n°2 (second round) of the nested PCR, and for the SNaPshot reaction. (gact)<sub>n</sub> tails added to the SNaPshot primers are shown in lower case.

The mix for **PCR conditions n°1** (20 µL) contained 2 µL of DNA template, 1x buffer, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200µM each dNTP, 0.25 µM of each primer and 0.03 units *Taq* polymerase (Eurogentec, Seraing, Belgium). Thermocycling was performed in a Biometra (Goettingen, Germany) 96-well T3 thermocycler. Program for **PCR condition n°1A** was: initial denaturation at 94°C for 5 minutes; 45 cycles at 94°C for 40 seconds, 56°C for 1 minute and 72°C for 1 minute. Program for **PCR condition n°1B** was: initial denaturation at 94°C for 3 minutes; 45 cycles at 94°C for 1 minute, 52°C for 2 minutes and 72°C for 1 minute.

The mix for **PCR conditions n°2** (20 µL) contained 2 µL of PCR product n°1, 1x buffer, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200µM each dNTP, 0.5 µM of each primer and 0.03 units *Taq* polymerase (Eurogentec, Seraing, Belgium). Program for **PCR condition n°2A** was: initial denaturation at 94°C for 2 minutes; 45 cycles at 94°C for 20 seconds, 47°C for 20 seconds and 72°C for 30 seconds; final elongation step at 72°C for 2 minutes. Program for **PCR condition n°2B** was: initial denaturation at 94°C for 2 minutes; 45 cycles at 94°C for 20 seconds, 49°C for 20 seconds and 72°C for 30 seconds; final elongation step at 72°C for 2 minutes.

For **digestion n°1**, 5 U *SAP* (Shrimp Alkaline Phosphatase, Amersham), 2 U *Exo I* (Exonuclease I, Amersham) and Sap Buffer (final concentration 1x) were added to the template DNA (20 µL PCR n°2). Program was 37°C for 1h then 75°C for 15 minutes.

The **SNaPshot reaction** for *Pfdhfr* and *Pfdhps* (10 µL) contained 5 µL SNaPshot reaction mix, 1 µL primer pool at the optimized final concentrations mentioned above for each primer, 1 µL dH<sub>2</sub>O, 3 µL amplified template from the second PCR reaction. Reaction conditions were as shown in the ABI PRISM SNaPshot® Multiplex Kit (96°C, 10 s; 50°C, 5 s; 60°C, 30 s) x 25.

For **digestion n°2**, 5 U *SAP* (Shrimp Alkaline Phosphatase, Amersham, ...) and Sap Buffer (final concentration 1x) were added to the template DNA (10 µL SNaPshot reaction). Program was 37°C for 1h then 75°C for 15 minutes.

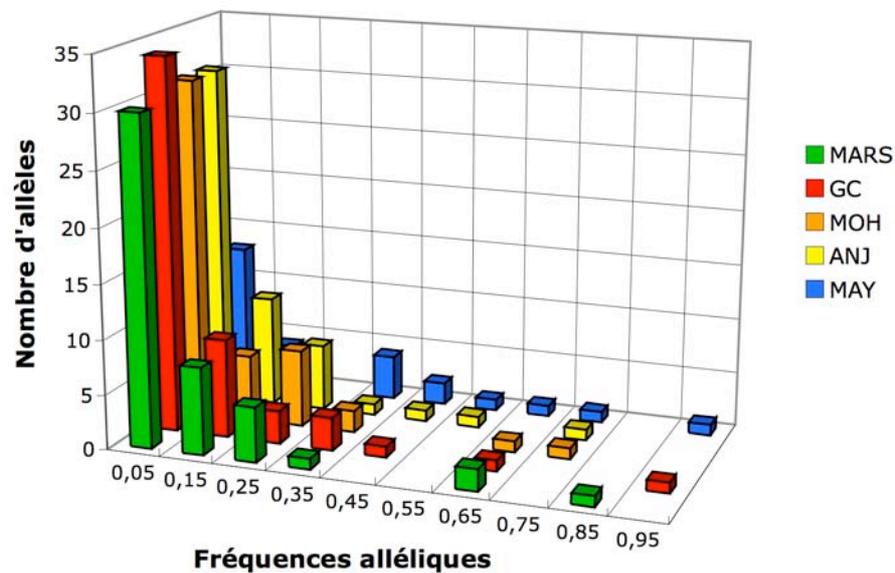
Annexes

**Annexe 3 - Diversité génétique des populations de *Plasmodium falciparum* de Marseille (MARS), Grande Comore (GC), Mohéli (MOH), Anjouan (ANJ) et Mayotte (MAY)**

Loci	Marseille (MARS)				Grande Comore (GC)				Mohéli (MO)				Anjouan (ANJ)				Mayotte (MAY)			
	N	A	He		N	A	He		N	A	He		N	A	He		N	A	He	
PF2689	42	6	0,53		35	4	0,47		29	4	0,44		43	3	0,52		39	3	0,15	
7A11	50	11	0,87		38	9	0,81		38	9	0,85		48	9	0,82		41	5	0,41	
C4M79	51	15	0,87		41	16	0,86		33	13	0,85		51	15	0,83		40	9	0,74	
PF2802	36	2			31	1	0,00		23	4	0,48		32	3	0,43		36	2	0,48	
TRAP	43	6	0,56		39	12	0,79		33	11	0,80		57	11	0,85		39	3	0,60	
C4M69	40	7			34	9	0,87		25	7	0,82		38	10	0,84		37	5	0,68	
	N	A	He	SD	N	A	He	SD	N	A	He	SD	N	A	He	SD	N	A	He	SD
<b>6 loci</b>	58	7,8	0,63	0,26	50	8,5	0,63	0,34	53	8	0,71	0,20	76	8,5	0,71	0,19	44	4,5	0,51	0,21

\*N = nombre de parasites détectés ; A = nombre d'allèles par locus ; He = hétérozygotie attendue non biaisée de Nei. Calcul à partir des données brutes sur le logiciel GENETIX version 4.05.

**Annexe 4 - Distribution des fréquences alléliques pour chaque population plasmodiale**



## Annexe 5 – Test d'assignement des parasites de MAY et MARS

Population	Echantillon assigné	Probabilité de provenir de			Population	Echantillon assigné	Probabilité de provenir de			
		GC	MOH	ANJ			GC	MOH	ANJ	MAY
MAY	D002	0,356	0,023	0	MARS	E002	0,0378	0,01146	0,00186	0,00027
	D004	0,003	0,105	0		E002	0,04931	0,01298	0,00113	0,00114
	D005	0	0	0		E004	0,27566	0,00437	0,03272	0,0005
	D007	0,356	0,023	0		E006	0,42377	0,06896	0,02939	0,00149
	D009	0	0	0		E007	0,03306	0,01298	0,00657	0,00698
	D010	0	0	0		E007	0,00838	0,00236	0,0005	0,00698
	D011	0	0	0		E008	0,00299	0,01531	0,00214	0,00027
	D013	0	0	0		E008	0,0787	0,76591	0,34807	0,00051
	D020	0,291	0,006	0,004		E009	0,00503	0,15483	0,20875	0,00027
	D022	0	0	0		E016	0,60172	0,16826	0,34089	0,00308
	D027	0	0	0		E018	0,00964	0,03444	0,01869	0,00012
	D032	0	0	0		E018	0,00964	0,03444	0,01869	0,00012
	D035	0,291	0,006	0,004		E019	0,00042	0,51581	0,00593	0,00069
	D046	0,003	0,105	0		E023	0,02096	0,00491	0,01704	0,01546
	D048	0,291	0,006	0,004		E024	0,2527	0,07268	0,02267	0,00031
	D052	0,291	0,006	0,004		E025	0,00051	0,0855	0,00048	0,01064
	D057	0,291	0,006	0,004		E025	0,00014	0,02379	0,00036	0,00115
	D058	0,291	0,006	0,004		E027	0,01305	0,53325	0,00077	0,00147
	D060	0,291	0,006	0,004		E028	0,2527	0,07268	0,02267	0,00031
	D061	0,291	0,006	0,004		E029	0,50779	0,05341	0,0039	0,00319
	D064	0,291	0,006	0,004		E032	0,01836	0,00085	0	0
	D067	0,291	0,006	0,004		E032	0,0326	0,00189	0,00012	0,00004
	D070	0,291	0,006	0,004		E034	0,69973	0,94619	0,24592	0,00319
	D072	0,647	0,298	0,249		E035	0,38824	0,19752	0,00149	0,00016
	D077	0,291	0,006	0,004		E035	0,05272	0,00437	0,00053	0,00005
	D081	0	0	0		E036	0,04587	0,05734	0,01246	0,00023
	D082	0,01	0,008	0,349		E038	0,00982	0,03053	0,21921	0,0008
D084	0,01	0,008	0,349	E039	0,90995	0,82691	0,11191	0,07661		
D089	0	0	0	E041	0,86795	0,36023	0,71237	0,13078		
D096	0	0	0	E044	0,34757	0,01061	0,02983	0,00024		
D098	0	0	0	E047	0,68238	0,36023	0,05035	0,18671		
D118	0,01	0,008	0,349	E049	0,00183	0,03789	0,00057	0,00027		
D120	0,01	0,008	0,349	E049	0,05879	0,3837	0,00702	0,00088		
D121	0	0,084	0,025	E050	0,05879	0,3837	0,00702	0,00088		
D122	0	0	0	E052	0,21143	0,00809	0,00288	0,00114		
D132	0,291	0,006	0,004	E054	0,0008	0,00805	0,0039	0,00098		
				E055	0,06148	0,08119	0,00702	0,01178		
				E056	0,80414	0,86077	0,88305	0,01178		
				E057	0,22118	0,06896	0,53696	0,00144		
				E062	0,10258	0,01611	0,00036	0,02342		
				E064	0,00428	0,01356	0,0005	0,00341		
				E066	0,38295	0,64498	0,00537	0,04231		

Test d'assignement réalisé sur GENECLASS 2.0., selon la méthode bayésienne de Rannala & Mountain 1997 et avec calcul des probabilités par simulation de Monte Carlo selon l'algorithme de Rannala & Mountain 1997. Grisé : probabilité d'assignement  $\geq$  0,5

MAY : assignement à partir des clones majoritaires complets (N total = 149) ; nombre d'individus simulés = 1000.

MARS : assignement à partir des haplotypes reconstruits complets (N total = 174) ; nombre d'individus simulés = 10000.

**Annexe 6 – Déséquilibre de liaison dans les populations plasmodiales de Marseille (MARS), Grande Comore (GC), Mohéli (MOH), Anjouan (ANJ) et Mayotte (MAY) selon les 6 microsatellites géotypés**

Paires de microsatellites	MARS	GC	MOH	ANJ	MAY
PF2689 X 7A11	0,81067	0,73933	0,72467	0,454	0,00267
PF2689 X C4M79	0,374	0,272	0,54	0,04333	0,10333
PF2689 X PF2802	0,69333	NA	0,31333	0,41467	1
PF2689 X TRAP	0,08	0,194	0,392	0,00933	0,14333
PF2689 X C4M69	0,45667	0,126	0,48	0,04733	0,21467
7A11 X C4M79	0,266	0,986	0,01867	0,13	0,00067
7A11 X PF2802	0,79667	NA	0,09733	0,502	0,07933
7A11 X TRAP	0,47867	0,79067	0,38	0,37533	0,36533
7A11 X C4M69	0,37667	0,58	0,332	0,07133	0,00933
C4M79 X PF2802	0,18467	NA	0,154	0,204	0,00067
C4M79 X TRAP	0,65	0,15267	0,77533	0,57333	0,00067
C4M79 X C4M69	0,62667	0,11333	0,69133	0,04867	0,00067
PF2802 X TRAP	0,03467	NA	0,36067	0,07	0,00067
PF2802 X C4M69	0,94133	NA	0,09667	0,22067	0,00067
TRAP X C4M69	0,03667	0,30867	0,02133	0,68733	0,00067

Déséquilibre de liaison testé sur le logiciel FSTAT 2.9.4 par procédure de 1500 permutations, à partir du clone majoritaire de chaque échantillon (N total = 180).

*P*-value ajustée pour un risque alpha de 5% : 0,000666667.

Annexes

**Annexe 7 - Prévalence de la mutation K76T du gène *Pfcr*, de la triple mutation du gène *Pfdhfr* et de la double mutation du gène *Pfdhps* dans les populations de *Plasmodium falciparum* populations de Marseille, Grande Comore, Mohéli et Anjouan.**

	MARS			GC			MOH			ANJ			MAY			Total		
	Alleles	n	%	DS	n	%	DS	n	%	DS	n	%	DS	n	%	DS	n	%
<i>Pfcr</i> 76T	36	52,8%	8,3%	33	45,5%	8,7%	33	45,5%	8,7%	36	13,9%	5,8%	36	91,7%	4,6%	174	50,0%	3,8%
<i>Pfcr</i> 76 T & K	36	0,0%	0,0%	33	9,1%	5,0%	33	6,1%	4,2%	36	5,6%	3,8%	36	2,8%	2,7%	174	4,6%	1,6%
<i>Pfcr</i> K76 (Wt)	36	47,2%	8,3%	33	45,5%	8,7%	33	48,5%	8,7%	36	80,6%	6,6%	36	5,6%	3,8%	174	45,4%	3,8%
<i>Pfdhfr</i> 108N	36	80,6%	6,6%	26	50,0%	9,8%	19	84,2%	8,4%	34	38,2%	8,3%	36	50,0%	8,3%	151	58,9%	4,0%
<i>Pfdhfr</i> 108 N & S	36	2,8%	2,7%	26	15,4%	7,1%	19	5,3%	5,1%	34	11,8%	5,5%	36	0,0%	0,0%	151	6,6%	2,0%
<i>Pfdhfr</i> 108S (Wt)	36	16,7%	6,2%	26	34,6%	9,3%	19	10,5%	7,0%	34	50,0%	8,6%	36	50,0%	8,3%	151	34,4%	3,9%
<i>Pfdhfr</i> 59R	36	77,8%	6,9%	26	50,0%	9,8%	19	78,9%	9,4%	34	26,5%	7,6%	36	44,4%	8,3%	151	53,6%	4,1%
<i>Pfdhfr</i> 59 R & C	36	2,8%	2,7%	26	7,7%	5,2%	19	10,5%	7,0%	34	11,8%	5,5%	36	0,0%	0,0%	151	6,0%	1,9%
<i>Pfdhfr</i> 59C (Wt)	36	19,4%	6,6%	26	42,3%	9,7%	19	10,5%	7,0%	34	61,8%	8,3%	36	55,6%	8,3%	151	40,4%	4,0%
<i>Pfdhfr</i> 51I	35	65,7%	8,0%	26	38,5%	9,5%	19	63,2%	11,1%	34	23,5%	7,3%	36	44,4%	8,3%	150	46,0%	4,1%
<i>Pfdhfr</i> 51 N & I	35	2,9%	2,8%	26	11,5%	6,3%	19	5,3%	5,1%	34	2,9%	2,9%	36	0,0%	0,0%	150	4,0%	1,6%
<i>Pfdhfr</i> 51N (Wt)	35	31,4%	7,8%	26	50,0%	9,8%	19	31,6%	10,7%	34	73,5%	7,6%	36	55,6%	8,3%	150	50,0%	4,1%
<i>Pfdhfr</i> 108N & 59R	36	80,6%	6,6%	26	57,7%	9,7%	19	89,5%	7,0%	34	38,2%	8,3%	36	44,4%	8,3%	151	59,6%	4,0%
<i>Pfdhfr</i> 108N & 59R & 51I	35	68,6%	7,8%	26	50,0%	9,8%	19	68,4%	10,7%	34	26,5%	7,6%	36	44,4%	8,3%	150	50,0%	4,1%
<i>Pfdhps</i> 437G	36	8,3%	4,6%	25	4,0%	3,9%	24	20,8%	8,3%	31	0,0%	0,0%	36	0,0%	0,0%	152	5,9%	1,9%
<i>Pfdhps</i> 437 G & A	36	5,6%	3,8%	25	0,0%	0,0%	24	4,2%	4,1%	31	0,0%	0,0%	36	0,0%	0,0%	152	2,0%	1,1%
<i>Pfdhps</i> 437 A (Wt)	36	86,1%	5,8%	25	96,0%	3,9%	24	75,0%	8,8%	31	100,0%	0,0%	36	100,0%	0,0%	152	92,1%	2,2%
<i>Pfdhps</i> 540E	36	0,0%	0,0%	25	0,0%	0,0%	24	4,2%	4,1%	31	0,0%	0,0%	36	0,0%	0,0%	152	0,7%	0,7%
<i>Pfdhps</i> 540 E & K	36	0,0%	0,0%	25	4,0%	3,9%	24	0,0%	0,0%	31	0,0%	0,0%	36	0,0%	0,0%	152	0,7%	0,7%
<i>Pfdhps</i> 540 K (Wt)	36	100,0%	0,0%	25	96,0%	3,9%	24	95,8%	4,1%	31	100,0%	0,0%	36	100,0%	0,0%	152	98,7%	0,9%
<i>Pfdhps</i> 437 G & 540 E	36	0,0%	0,0%	25	0,0%	0,0%	24	0,0%	0,0%	31	0,0%	0,0%	36	0,0%	0,0%	152	0,0%	0,0%
<i>Pfcr</i> 76T & ( <i>Pfdhfr</i> 108N & 59R & 51I)	35	42,9%	8,4%	25	32,0%	9,3%	19	26,3%	10,1%	34	11,8%	5,5%	36	41,7%	8,2%	149	31,5%	3,8%

n = nombre d'isolats génotypés pour *Pfcr*, *Pfdhfr* et/ou *Pfdhps* ; DS = déviation standard ou écart type.



## RÉSUMÉ

Alors que le paludisme à *P. falciparum* constitue le problème de santé publique principal aux Comores, les informations relatives à son épidémiologie demeurent fragmentaires et anciennes. Le présent travail en propose la synthèse, et y associe une application au paludisme comorien des méthodes récentes d'épidémiologie moléculaire et de génétique des populations. Il apporte une meilleure compréhension de son épidémiologie, et aboutit à des recommandations très pratiques pour améliorer les stratégies de surveillance et de lutte antipaludique.

Ainsi, la situation apparaît contrastée sur l'archipel. Grande Comore, Mohéli et Anjouan sont des îles marquées par une morbidité palustre relativement importante, et leur population plasmodiale est globalement homogène. La morbidité est en revanche beaucoup plus faible sur Mayotte, où les cas sont pour moitié d'origine importée depuis les îles voisines, et pour moitié autochtones et concentrés dans le foyer résiduel et isolé de Bandraboua selon une distribution microépidémique. Les niveaux de chimiorésistance, globalement élevés sur l'archipel, sont également contrastés entre les îles, du fait de pressions médicamenteuses différentes.

En complément des stratégies de lutte antipaludique actuellement mises en place, ces informations conduisent donc à suggérer : (1) la nécessité d'une surveillance de la chimiorésistance séparée pour chaque île, (2) qu'un programme d'éradication devrait être mis en place sur les 4 îles à la fois pour espérer être efficace, et (3) un renforcement de la prévention des épidémies sur la commune de Bandraboua. L'arrivée récente des ACT, la large distribution des moustiquaires imprégnées et la tentative d'élimination du paludisme à Mohéli modifieront cependant à court terme cette situation épidémiologique. Ils devraient aussi relancer la pertinence d'une surveillance des résistances excentrée à Marseille, dont la représentativité génétique des parasites importés est pour l'instant limitée.

**Mots clefs** – Paludisme, *P. falciparum*, Comores, Mayotte, Marseille, épidémiologie, génétique, structuration, microsattellites, résistances.