

Origine et déterminants de l'épidémie de choléra 2012 en République de Guinée :

Apports de la cartographie dynamique et de l'épidémiologie moléculaire



Étude sollicitée par :

Division Prévention et Lutte contre la Maladie, Direction Nationale de la Santé Publique, Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique, République de Guinée

&

United Nations Children's Fund, UNICEF Conakry



Étude financée par :

United Nations Children's Fund, UNICEF Conakry



Étude réalisée par :

Stanislas REBAUDET & Renaud PIARROUX

Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille (APHM)

Université Aix-Marseille

**Assistance Publique
Hôpitaux de Marseille**

entre août 2012 et janvier 2013

Remerciements

Nous souhaitons remercier l'ensemble des personnes ayant permis et enrichi ce travail d'épidémiologie opérationnelle, et tout particulièrement :

Les membres de la section WASH de l'UNICEF-Régional pour l'Afrique de l'Ouest et Centrale, de l'UNICEF-Guinée et de l'UNICEF-Sierra Leone, notamment François BELLET, Lalit PATRA et Alama KEITA, pour avoir sollicité, permis et accompagné cette consultance.

Le Dr Sakoba KEITA, chef de la DPLM, pour ses éclairages et la mise à disposition des moyens logistiques et humains ayant permis nos déplacements sur le terrain. Nous remercions ainsi le Dr Yacouba KANDÉ et Seikou KEITA pour leur énergie et leur sympathie. Merci également au Dr Ousmane YATTARA pour son difficile travail sur la base de données.

Le Dr Lamine KOIVOGUI, directeur de l'INSP, pour sa bienveillance, ainsi que Hafía DIALLO, pour la qualité de son travail au laboratoire.

L'ensemble des DPS, MCM et personnels des CTC rencontrés à l'occasion de nos visites dans les préfectures, pour leur hospitalité, leur disponibilité et la pertinence de leurs observations et analyses.

Le consortium Africhol, dont le soutien matériel, humain et méthodologique a facilité la collecte et l'isolement au laboratoire de l'INSP des souches de *Vibrio cholerae* génotypées dans le présent travail.



Le Pr Éric GARNOTEL, du laboratoire de bactériologie de l'Hôpital Laveran, et le Pr Pierre-Édouard FOURNIER, de l'IHU Méditerranée-Infection, ainsi et leurs équipes, en collaboration avec lesquels ont été réalisés les génotypages, respectivement par MLVA et par séquençage.

Résumé

Après plusieurs années d'accalmie, la Guinée et la Sierra Leone ont été frappées en 2012 par une épidémie de choléra responsable de 7351 cas et 138 décès en Guinée, 22815 cas et 296 décès en Sierra Leone. En dépit d'implications pratiques majeures en termes de santé publique, la question de l'origine des épidémies de choléra dans les régions côtières africaines n'est pas tranchée. Beaucoup considèrent que les souches présentes dans l'environnement aquatique côtier sont à l'origine des reprises épidémiques, mais aucune étude ne l'a démontré formellement. Inversement, les mouvements humains, fréquents dans les zones côtières, pourraient aussi expliquer ces résurgences épidémiques. Afin de clarifier ce débat et mieux orienter leurs stratégies de préparation et de riposte aux épidémies de choléra, les autorités sanitaires Guinéennes et le département Eau-Hygiène-Assainissement de l'UNICEF-Guinée ont mandaté l'Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille pour investiguer l'origine de l'épidémie de 2012 en Guinée et en identifier les principales causes de propagation dans le pays.

L'analyse combinée des résultats de cartographie dynamique, d'investigations de terrain, d'épidémiologie moléculaire basée sur le géotypage de microsatellites de souches cliniques de *V. cholerae* recueillies au cours de l'épidémie, et du séquençage total de l'une d'entre elles, suggère fortement l'origine importée de cette épidémie. Le choléra en 2012 est arrivé de Sierra Leone via les mouvements de pêcheurs et s'est dans un premier temps propagé le long du littoral guinéen au cours de la saison sèche. Profitant des pluies et de conditions d'accès à l'eau et d'assainissement défavorables, l'épidémie a ensuite explosé à Conakry. Son expansion vers l'intérieur a été favorisée par le trafic routier et les marchés hebdomadaires. Cette propagation s'est accompagnée d'une diversification génétique progressive à partir d'un géotype originel, présent dès le début de l'épidémie sur l'île de Kaback. Enfin, cette flambée a été causée par une souche El Tor « atypique » de *V. cholerae*, que l'on sait avoir émergé récemment en Asie. Cette souche présente des marqueurs génétiques de pathogénicité associés à la survenue de formes plus sévères que celles habituellement rencontrées au cours de la septième pandémie.

Suite à cette analyse nous recommandons le renforcement de la coopération transfrontalière entre la Guinée et ses pays voisins afin mieux anticiper les épidémies de choléra en amont de leur importation. Afin de limiter le risque de propagation du choléra, il importe de mieux protéger les communautés de pêcheurs par la sensibilisation, la sécurisation des accès à l'eau potable et à un environnement sain et, comme option sérieuse à envisager, la vaccination ciblée. Afin de mieux détecter les épidémies lorsqu'elles émergent sur le territoire guinéen, il est nécessaire de dédier des agents de santé communautaires à la surveillance syndromique des diarrhées aiguës sévères, en particulier dans les ports de pêche. En zone côtière, les centres de santé devraient disposer systématiquement de tests de diagnostic rapide et milieux de transports Carry-Blair. Enfin, à partir du moment où des cas sont constatés à Conakry, il est impératif de réhausser le niveau de chloration de l'eau distribuée par la SEG, de manière à limiter les risques de contamination de l'eau soit au niveau du réseau, soit durant son stockage intra-domiciliaire.

Sommaire

Remerciements.....	2
Résumé	3
Sommaire.....	4
Table des figures et des tableaux.....	6
Abréviations.....	7
1. Introduction.....	8
1.1 Contexte.....	8
1.2 Objectifs de la consultance.....	10
1.2.1 Objectif général	10
1.2.2 Objectifs spécifiques principaux.....	10
1.2.3 Objectifs spécifiques secondaires	10
1.3 Financement de la consultance	10
2. Analyse du déroulement de l'épidémie	11
2.1 Dynamique spatio-temporelle.....	11
2.2 Déterminants de l'épidémie de choléra 2012 en Guinée.....	15
2.2.1 Mouvements de pêcheurs.....	15
2.2.2 Echanges terrestres : villes, routes principales, marchés hebdomadaires, commerce	16
2.2.3 Poissons.....	17
2.2.4 Ramadan, funérailles	18
2.2.5 Pluie.....	18
2.2.6 Réseau d'adduction d'eau	19
2.2.7 Campagnes de vaccination anti-cholériques	21
2.3 Épidémiologie moléculaire par MLVA.....	22
2.4 Séquençage total d'une des souches isolée en Guinée.....	23
2.5 Recherche de vibrios environnementaux.....	25
3. Conclusion	27
4. Recommandations	29
Visant à mieux détecter les épidémies de choléra en amont de leur survenue en Guinée :	29
Visant à limiter le risque de propagation du choléra en Guinée :	29
Visant à mieux détecter les épidémies de choléra lors de leur arrivée en Guinée :	29
Visant à mieux adapter la riposte aux voies de propagation du choléra en Guinée :	30
5. Annexe méthodologique.....	31
5.1 Déroulement de la mission sur le terrain	31
5.2 Liste non exhaustive des personnes rencontrées	34

5.3 Données recueillies	36
5.3.1 Cas de choléra notifiés à la DPLM	36
5.3.2 Données démographiques.....	37
5.3.3 Fonds de carte.....	37
5.3.4 Données météorologiques.....	37
5.3.5 Anamnèses épidémiologiques des préfectures, sous-préfectures et localités touchées – enquêtes de terrain.....	37
5.3.6 Données de fourniture en eau potable dans la ville de Conakry	37
5.3.7 Souches cliniques de <i>Vibrio cholerae</i>	38
5.3.8 Echantillons environnementaux : eau et poissons	39
5.4 Analyses épidémiologiques	40
5.4.1 Epidémiologie descriptive globale.....	40
5.4.2 Epidémiologie analytique, recherche de facteurs de risque.....	40
5.5 Génomique et épidémiologie moléculaire	40
5.5.1 Expédition des souches bactériennes	40
5.5.2 Remise en culture des souches de vibrios et extraction de l'ADN.....	40
5.5.3 Analyse MLVA	41
5.5.4 Séquençage total d'une des souches isolées.....	41
5.6 Recherche de vibrios environnementaux.....	42
5.6.1 Conditionnement, transport et culture des échantillons d'eau et d'intestins de poissons	42
5.6.2 Identification des souches de vibrio obtenues.....	42
5.6.3 Confirmation d'identification à Marseille.....	42

Table des figures et des tableaux

Figure 1 – Choléra 2012 en Guinée. Cas suspects et pluviométrie hebdomadaires.	11
Figure 2 – Préfectures affectées par l'épidémie de choléra 2012 en Guinée.	12
Figure 3 – Choléra 2012 en Guinée. Incidences cumulées par préfecture. Pas de temps de 5 semaines.	13
Figure 4 – Rôle des villages de pêcheurs dans la progression littorale de l'épidémie de choléra 2012 en Guinée, jusqu'à la semaine 17.	14
Figure 5 – Pyramide des âges des cas suspects de choléra recensés dans les préfectures de Forecariah et de Boffa au cours des 8 premières semaines de l'épidémie 2012.	17
Tableau 1 – Communes de Conakry en 2012. Démographie, distribution d'eau par la SEG, morbidité du choléra.	19
Figure 6 – Génomotypage par MLVA de 38 souches cliniques de <i>Vibrio cholerae</i> isolées en Guinée en 2012. Représentation schématisée des relations entre les génotypes identifiés.	23
Figure 7 – Comparaison de la structure génomique des îlots de pathogénicité principaux de la souche de <i>V. cholerae</i> isolée en 2012 en Guinée, de la souche El Tor de référence (7 ^e Pandémie, en orange) et de la souche Classique de référence (6 ^e Pandémie, en vert).	25
Tableau 2 – Recherches de vibrios environnementaux effectuées lors de la mission en Guinée et Sierra Leone.	26
Tableau 3 – Déroulement de la mission effectuée en Guinée et en Sierra Leone du 21 août au 18 septembre 2012.	31
Tableau 4 – Liste et contacts des personnes rencontrées pendant la mission.	34
Tableau 5 – Bilan des buvards prélevés.	39
Tableau 6 – Caractéristiques des 6 microsattellites génotypés et des amorces employées.	41

Abréviations

APHM	Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille
CRL	Chlore résiduel libre
CTC	Centre de traitement du choléra
CV	Couverture vaccinale
DNHP	Direction Nationale de l'Hygiène Publique
DPLM	Direction de la Prévention et de la Lutte contre la Maladie
DPS	Direction Préfectorale de la Santé
INSP	Institut National de Santé Publique
MCM	Médecin chargé de la maladie
MLVA	Analyse de plusieurs locus VNTR (<i>Multiple loci VNTR analysis</i>)
SEG	Société des Eaux de Guinée
UTC	Unité de traitement du choléra
VNTR	Répétition en tandem polymorphe (<i>Variable number tandem repeat</i>), synonyme de microsatellite

1. Introduction

1.1 Contexte

Entre 2002 et 2009, Libéria, Sierra Leone, Guinée et Guinée-Bissau ont été frappés par une série d'épidémies de choléra ¹. Ces épidémies, souvent transfrontalières, ont surtout touché les zones côtières pendant la saison des pluies ². A partir de 2008 (en Sierra Leone) et de 2009 (en Guinée) la situation s'est nettement améliorée et ces deux pays n'ont notifié que quelques dizaines de cas annuels. En Guinée, un programme de surveillance nationale systématique avait pourtant été mis en place pour mieux détecter les cas. A l'issue de cette période d'accalmie prolongée, une nouvelle épidémie est survenue début 2012, débutant au sein de communautés de pêcheurs vivant dans les zones maritimes contiguës de ces deux pays ³: district de Kambia en Sierra Leone ; préfecture de Forecariah en Guinée. Débutant en saison sèche, l'épidémie s'est aggravée à l'arrivée de la saison des pluies pour frapper durement Freetown et Conakry. Au total, 22815 cas et 296 décès ont été recensés en date du 12 décembre 2012 en Sierra Leone ⁴, et 7351 cas et 138 décès au 31 décembre en Guinée (source : INFOCHOL-Guinée).

Du fait du caractère saisonnier et côtier du choléra dans cette partie de l'Afrique et à l'instar de ce qui a été décrit en Asie, la résurgence des épidémies de choléra est généralement expliquée par la persistance de souches pathogènes dans l'environnement côtier et par leur prolifération lorsque les conditions climatiques deviennent favorables. Selon une série d'études réalisées dans le Golfe du Bengale, l'environnement côtier est en effet classiquement considéré comme un réservoir naturel de *Vibrio cholerae*, d'où des épidémies de choléra émergent lorsque les conditions climatiques favorisent la prolifération du plancton sur lequel la bactérie se fixe et se multiplie ⁵. Cependant, faute d'études adéquates, la validité de cette théorie, volontiers élevée au rang de paradigme, n'a jamais été formellement confirmée en Afrique. Sur ce continent, les données épidémiologiques disponibles semblent relier les épidémies aux déplacements humains et à l'importation, dans une zone donnée, de souches provenant d'épidémie en cours dans d'autres foyers. De plus, les études épidémiologiques menées depuis quatre décennies mettent en évidence des zones, côtières ou non, où la propagation des épidémies semble plus aisée.

En dépit de ses implications importantes dans les stratégies de surveillance et de contrôle, le débat concernant l'origine et la propagation des épidémies de choléra en Guinée et dans la sous-région n'est donc pas tranché. L'hypothèse environnementale

¹ World Health Organization, « Cholera [every year since 1968] », *Weekly Epidemiological Record* (s. d.), <http://www.who.int/cholera/statistics/en/index.html>.

² Bertrand Sudre et Didier Bompangue, *Epidémiologie du choléra et Evaluation du Système d'Alerte Précoce en République de Guinée* (UNICEF, novembre 2009), <http://ochaonline.un.org/CoordinationIASC/WASH/tabid/5629/language/fr-FR/Default.aspx>.

³ WHO Regional Office for Africa, Disease Prevention and Control Cluster, et Epidemic and Pandemic Alert and Response Programme, « Ongoing outbreaks. Cholera in Guinea », *Outbreak Bulletin* 2, n° 1 (20 février 2012): 9.

⁴ WHO Regional Office for Africa, Disease Prevention and Control Cluster, et Epidemic and Pandemic Alert and Response Programme, « Overview of reported outbreaks in the WHO African Region - Cholera », *Outbreak Bulletin* 2, n° 9 (21 décembre 2012): 1.

⁵ R R Colwell, « Global climate and infectious disease: the cholera paradigm », *Science (New York, N.Y.)* 274, n° 5295 (20 décembre 1996): 2025-2031; Erin K Lipp, Anwar Huq, et Rita R Colwell, « Effects of global climate on infectious disease: the cholera model », *Clinical Microbiology Reviews* 15, n° 4 (octobre 2002): 757-770.

inciterait à rechercher, surveiller et si possible contrôler les réservoirs environnementaux potentiels de *V. cholerae*. L'hypothèse « humaine » inciterait plutôt à renforcer la coopération intergouvernementale, la surveillance des épidémies émergentes et les efforts en matière d'eau-hygiène-assainissement dans les zones de propagation des épidémies.

Dans ce contexte, et afin de déterminer l'origine et les déterminants de l'épidémie 2012 en République de Guinée, la DPLM (Division Prévention et Lutte contre la Maladie) a sollicité auprès de l'Unicef-Guinée le financement d'une mission de consultance impliquant l'équipe du Professeur Renaud PIARROUX du centre hospitalo-universitaire de Marseille (Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille et Université Aix-Marseille).

En Guinée, les premiers travaux effectués en 2009 avaient montré l'importance des régions insulaires dans les épidémies de 2003 à 2008, permettant la mise en place d'un système d'alerte précoce ciblé sur ces zones ⁶. Afin de préciser l'origine de cette nouvelle épidémie 2012, une nouvelle étude de cartographie dynamique a donc été menée dans le cadre de cette consultance, associée à une enquête de terrain conduite en Guinée et en Sierra Leone du 21 août au 28 septembre.

Ces études ont été complétées par un volet bactériologique associant des méthodes de génotypage et de séquençage de souches de *Vibrio cholerae*. L'ajout de ce volet bactériologique avait pour but de mieux suivre la propagation de l'épidémie sur le territoire guinéen et de donner des arguments supplémentaires pour trancher entre l'hypothèse « humaine » et l'hypothèse « environnementale ». Dans l'hypothèse d'une importation par l'homme, les souches isolées en Guinée devraient présenter une proximité génétique très importante, car dérivant d'un clone apporté par un individu ou un petit groupe d'individus à l'origine de l'épidémie. Au contraire, l'hypothèse d'une épidémie liée à la multiplication dans l'environnement de souches présentes déjà depuis de nombreuses années devrait conduire à l'identification de plusieurs familles clonales distinctes, témoignant de contaminations itératives de l'homme à partir d'un large réservoir aquatique de *V. cholerae*.

⁶ Sudre et Bompangue, *Epidémiologie du choléra et Evaluation du Système d'Alerte Précoce en République de Guinée*.

1.2 Objectifs de la consultance

1.2.1 Objectif général

Comprendre l'origine et les déterminants de propagation de l'épidémie de choléra en Guinée en 2012.

1.2.2 Objectifs spécifiques principaux

- (1) Effectuer la cartographie dynamique de l'épidémie actuelle de choléra en Guinée.
- (2) Rechercher les déterminants de la dynamique de l'épidémie, et notamment l'influence de la pluie.
- (3) Réaliser une étude d'épidémiologie moléculaire basée sur le génotypage de souches de *V. cholerae* échantillonnées en Guinée en 2012.

1.2.3 Objectifs spécifiques secondaires

- (1) Evaluer la faisabilité d'un échantillonnage de selles cholériques sur buvard sec à visée de génotypage
- (2) Explorer l'existence de réservoirs aquatiques de *Vibrio cholerae* toxigènes.

1.3 Financement de la consultance

- Cette consultance est rentrée dans le cadre d'un partenariat institutionnel entre l'Unicef-Guinée et l'Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille (APHM), où travaille actuellement l'équipe de recherche du Professeur Renaud PIARROUX. Le financement accordé à l'APHM a permis de couvrir les frais de mission du Dr Stanislas REBAUDET (hors déplacements dans les régions visitées en Guinée et en Sierra Leone, respectivement pris en charge par le DPLM et l'Unicef-Sierra Leone), les frais d'analyses cartographiques, statistiques et génétiques, et de rédaction du présent rapport.
- Cette étude a par ailleurs indirectement bénéficié du soutien matériel, humain et méthodologique apporté par le consortium Africhol à la DPLM et l'INSP guinéens, puisque la collecte, l'isolement et la conservation des souches cliniques de *Vibrio cholerae* depuis le début de l'épidémie 2012 a été facilitée par la mise en œuvre de ce projet.

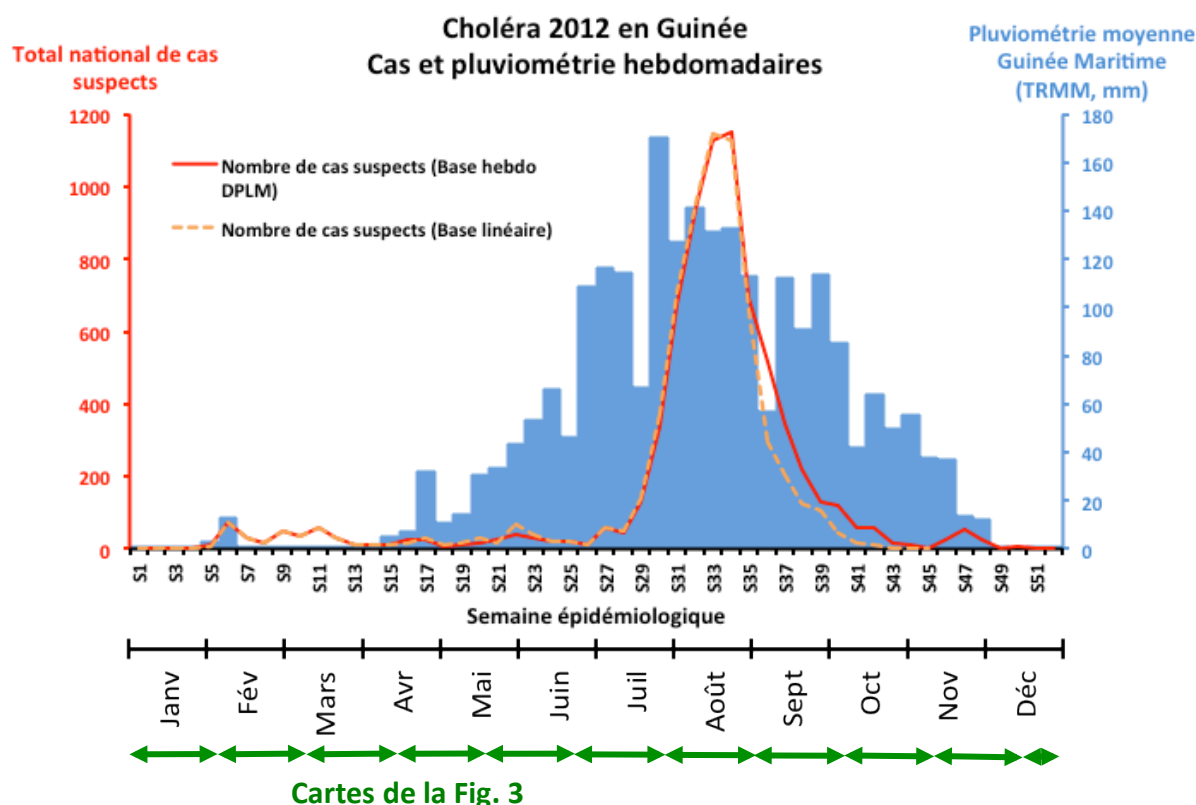
2. Analyse du déroulement de l'épidémie

Pour les détails de la méthodologie utilisée, se reporter à la section 5 *Annexes méthodologiques*.

2.1 Dynamique spatio-temporelle

Afin d'étudier aussi finement que possible la dynamique spatio-temporelle de l'épidémie de choléra 2012 en Guinée, nous avons, lors de notre mission sur place, assisté certaines DPS (Directions Préfectorales de la Santé) ainsi que la DPLM dans la constitution de la liste linéaire des cas suspects de choléra vus dans les différents centres de traitement. Pour chaque malade, cette base mentionne notamment la date de prise en charge et la localité d'origine, que nous avons ensuite affectée au découpage administratif de la Guinée : régions, préfectures, sous-préfectures, et si possible quartiers ou districts. La comparaison avec la base constituée de manière prospective par la DPLM à une échelle hebdomadaire et préfectorale montre que l'exhaustivité de cette base linéaire s'avère excellente pour les premiers mois de l'épidémie dans la plupart des préfectures. Pour certaines d'entre elles, la base est moins bien complétée à compter du mois de septembre (Fig. 1).

Figure 1 – Choléra 2012 en Guinée. Cas suspects et pluviométrie hebdomadaires.
(pluviométrie estimée par mesure satellite [TMPA-RT 3B42RT])

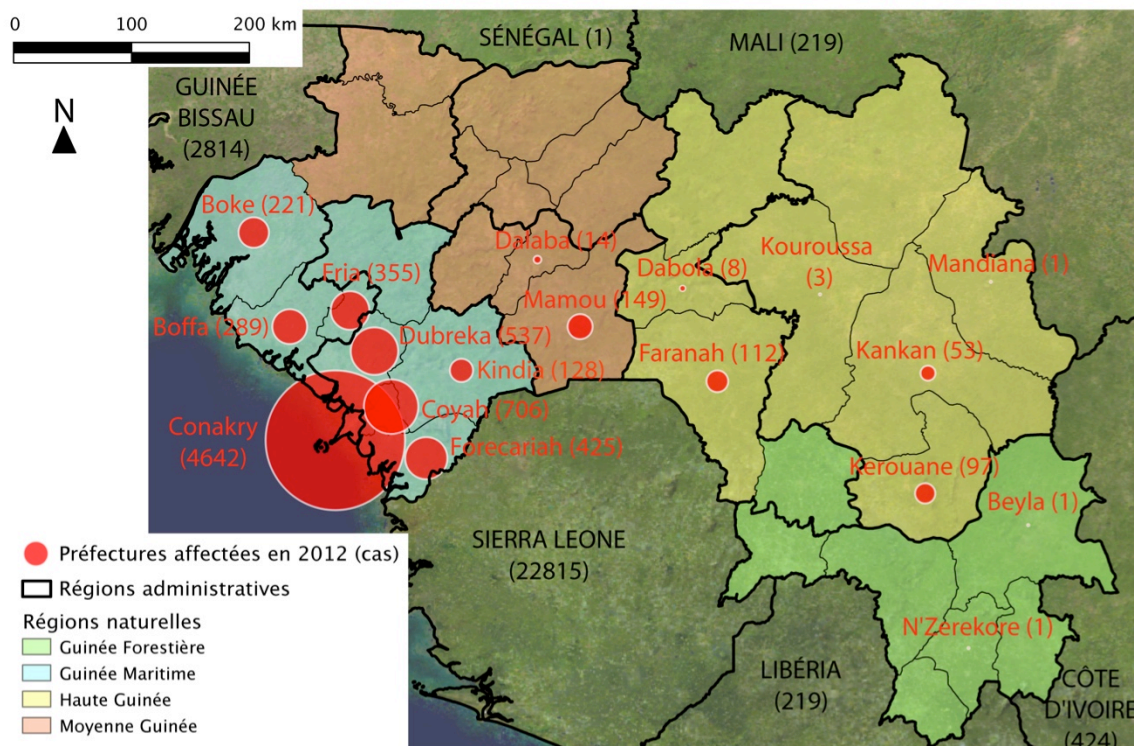


Au 31 décembre selon la base DPLM, l'épidémie de choléra 2012 en Guinée a ainsi été responsable de 7351 cas suspects recensés. En prenant en compte les cas supplémentaires de la base linéaire, ce nombre dépasse 7700 cas, soit une incidence cumulée de plus de 6 cas /10000 habitants. Outre la capitale, Conakry, 17 préfectures

ont été affectées, dont 13 de manière épidémique. Cinq de ces préfectures avaient une localisation littorale (Fig. 2).

Figure 2 – Préfectures affectées par l'épidémie de choléra 2012 en Guinée.

Nombre de cas suspects issu de la jonction de la base hebdomadaire et de la base linéaire des cas.



A partir de la jonction de ces 2 bases, nous avons réalisé une série de **cartographie dynamique** représentant l'incidence cumulée à l'échelle préfectorale, avec un pas de temps de 5 semaines (Fig. 3).

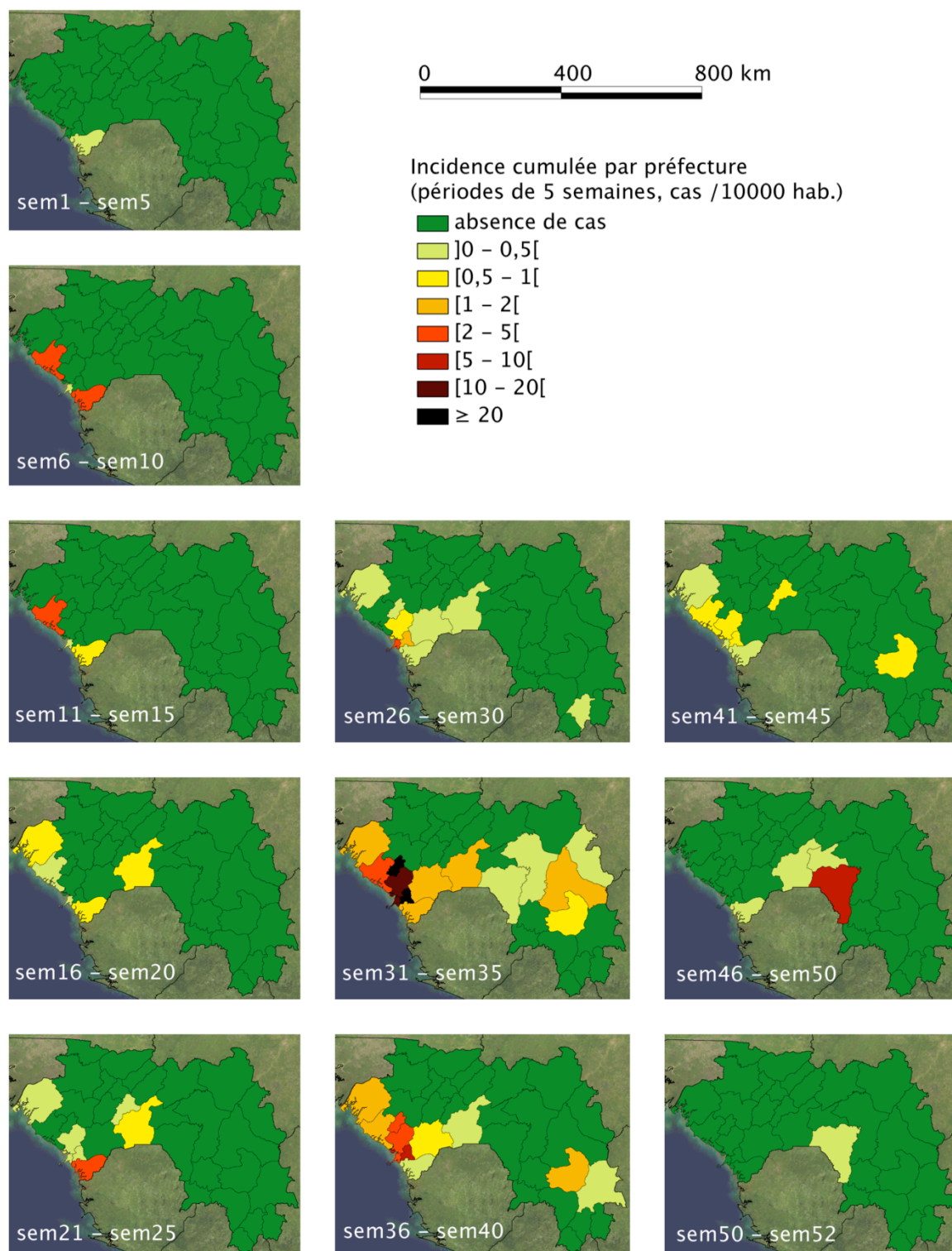
Le foyer initial de choléra émerge clairement dans la **sous-préfecture de Kaback** le 2 février (semaine 5), en pleine saison sèche (Fig. 3 et 4). Située dans la préfecture de Forécariah, cette île est proche de la frontière avec la Sierra Léone, où une épidémie de diarrhée – vomissements était signalée depuis début janvier. Le diagnostic de choléra sera établi bactériologiquement par la suite. Sur Kaback, les premiers cas sont recensés à Khounyi, avant de s'étendre aux localités voisines. Avec plus d'une centaine de cas en 1 mois, ce village de pêcheurs situé à l'extrémité sud-est de l'île, est également la localité la plus durement touchée de toute la préfecture. Un tel démarrage insulaire et frontalier avait déjà été observé en 1978, 1986, 2004, 2007 ou encore 2008 ⁷.

Epargnant dans un premier temps la presqu'île de Conakry, l'épidémie gagne ensuite rapidement la préfecture de Boffa le 19 février (semaine 7) (Fig. 3). Comme à

⁷ Ibid.

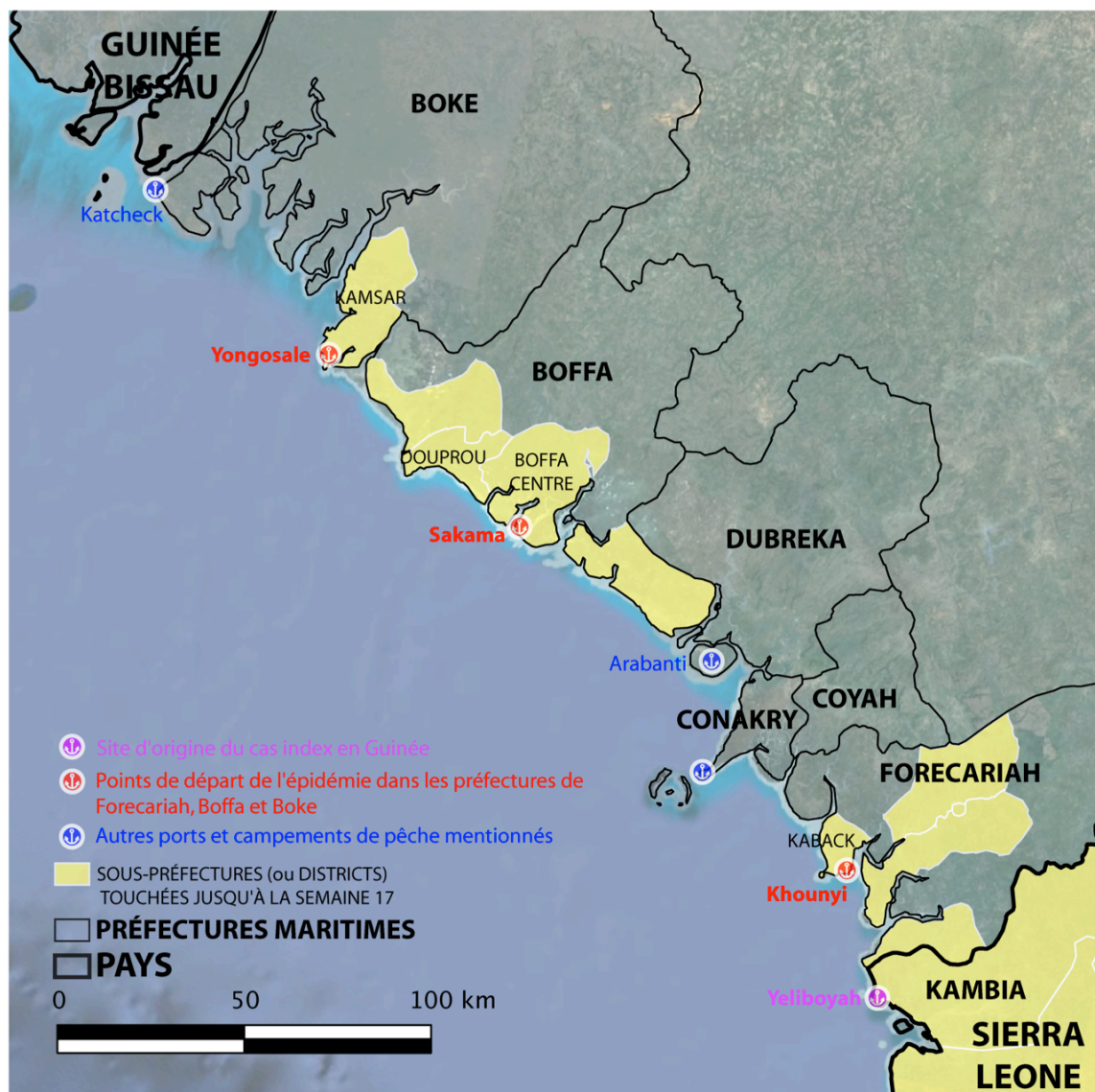
Forécariah, la localité affectée le plus précocement est un village de pêcheurs, Sakama, situé dans la **sous-préfecture de Boffa-Centre**. Dès la semaine suivante, le choléra s'étend à des localités voisines et à la sous-préfecture de Douprou (Fig. 4).

Figure 3 – Choléra 2012 en Guinée. Incidences cumulées par préfecture. Pas de temps de 5 semaines.



L'épidémie gagne ensuite la préfecture de Boké le 22 avril (semaine 16), une nouvelle fois au niveau d'un campement de pêche, situé sur l'île de Yongonsal, **sous-préfecture de Kamsar** (Fig. 3 et 4). Elle s'étend rapidement aux districts urbains de l'agglomération de Kamsar, qui comptabilisera la majorité des cas de la préfecture de Boké.

Figure 4 – Rôle des villages de pêcheurs dans la progression littorale de l'épidémie de choléra 2012 en Guinée, jusqu'à la semaine 17.



Concomitamment à cette progression littorale, l'épidémie s'étend aussi vers l'intérieur du pays (Fig. 3). Dans la **préfecture de Mamou**, située aux portes du massif du Fouta-Djalon, des cas de choléra sont en effet recensés au niveau de localités reculées de la sous-préfecture de Tegueriya à partir du 6 mai (semaine 18), c'est à dire au début de la saison des pluies. L'épidémie y sera principalement rurale et répartie en deux vagues de quelques dizaines de cas chacune.

Enfin **Conakry**, bien que située sur une presqu'île entre les préfectures de Coyah et Forécariah au sud et Dubreka au nord, constitue une entité épidémiologique à part entière. Dans cette capitale de 2 millions d'habitants, l'épidémie ne démarre réellement que le 29 mai (semaine 22), un mois après le début de la saison des pluies (Fig. 3). Avant cette date, seuls quelques cas isolés avaient été recensés à partir de la semaine 9. Avec plus de 4600 cas, Conakry constituera finalement l'épicentre de l'épidémie 2012. Très rapidement, les cinq communes de Conakry sont affectées dès la semaine 23, et l'épidémie se généralise à la plupart de leurs quartiers en quelques semaines. Le pic épidémique, avec plus de 100 cas par jour, se situe au mois d'août (semaines 33 et 34).

Quelques cas sporadiques mis à part, l'expansion à d'autres **préfectures de l'intérieur** est postérieure à l'explosion de l'épidémie à Conakry (Fig. 3). A Fria et Kindia, touchées à la semaine 30, ainsi qu'à Kankan, touchée à la semaine 32, l'épidémie est essentiellement urbaine. Les cas sont plutôt recensés en zone rurale dans les préfectures de Dalaba et Kérouané, atteintes à la semaine 35, ainsi qu'à Dabola et Faranah, touchées respectivement aux semaines 45 et 46. Fria mis à part, ces préfectures sont frappées par des épidémies d'ampleur limitée dans l'espace et le temps, qui n'excèdent pas quelques dizaines de cas hebdomadaires.

Les préfectures de Dubreka et Coyah rapportent leurs premiers cas dès le mois de juin (Fig. 3). Elles deviennent cependant réellement frappées par l'épidémie au début du mois d'août (semaine 31).

A **Dubreka**, les premiers malades sont recensés début juin sur Arabanti, une île de la sous-préfecture de Khorira, où se côtoient pêcheurs plurinationaux, extracteurs de sel et riziculteurs. En raison de la proximité avec la capitale, tant par la route que par bateau, de nombreux malades sont pris en charge dans des CTC de Conakry où ils sont comptabilisés. En réassignant ces malades, le nombre total de cas recensés pour la préfecture de Dubreka apparaît de l'ordre de 500 et non de 350.

De même, plusieurs dizaines de malades provenant de Coyah sont recensés dans les CTC de Conakry à compter du mois de juin. L'épidémie se cantonne initialement à la sous-préfecture de Maneah, associant des localités rurales et situées sur des bras de mer et des localités plus urbaines.

2.2 Déterminants de l'épidémie de choléra 2012 en Guinée

2.2.1 Mouvements de pêcheurs

Les **mouvements de pêcheurs** entre les localités insulaires ont joué un rôle important dans la propagation initiale de l'épidémie de choléra en 2012.

En **Sierra Leone**, les premiers cas suspects ont en effet été recensés au tout début 2012 au sein de communautés de pêcheurs de la zone de Yeliboyah (Fig. 4), dans le district de Kambia, près de la frontière guinéenne. D'autres villages de pêcheurs hébergeant une population cosmopolite ont également été précocement affectés au sud du pays, dans le district de Pujehun, où l'épidémie pourrait être arrivée du Liberia voisin, qui avait déclaré des cas en 2011. Selon une autre source, un pêcheur pourrait l'avoir importé du

Ghana, situé 1000 km plus à l'est le long des côtes du Golfe de Guinée (information de J. Peeters, Oxfam GB).

En **Guinée**, le premier foyer a également été un village de pêcheurs, Khounyi, sur l'île de Kaback, préfecture de Forécariah (Fig. 4). Le cas index, un jeune homme de 15 ans tombé malade le 2 février et décédé le lendemain, était arrivé le jour même de Sierra Leone. Il avait quitté en barque le village de Baïlò, situé à une quarantaine de kilomètres de là dans la zone insulaire de Yeliboyah.

Par la suite, l'expansion initiale du choléra en Guinée Maritime s'est aussi effectuée via les déplacements entre villages et campements de pêche. Les cas index identifiés dans les préfectures de Boffa et Boké sont en effet des pêcheurs respectivement rentrés à Sakama et Yongosale en provenance de zones déjà affectées par le choléra (Fig. 4).

2.2.2 Echanges terrestres : villes, routes principales, marchés hebdomadaires, commerce

Passé la période initiale, les échanges terrestres ont vraisemblablement constitué le mode de propagation essentiel du choléra en 2012.

Comme l'avait déjà montré l'analyse des épidémies de 2002 à 2008 en Guinée⁸, plusieurs **zones traversées par un trafic routier important** ont été durement affectées : la capitale, Conakry ; les sous-préfectures de Maneah et de Coyah Centre (Coyah), qui ont enregistré un nombre important de cas provenant de la préfecture voisine de Forecariah ; sous-préfecture de Tanene (Dubreka) ; sous-préfectures de Tormelin et de Kindia Centre (Kindia). Des cas importés de Sierra Leone par voie routière ont également été recensés au cours de l'épidémie.

La transmission du choléra semble également avoir profité de **certains grands marchés hebdomadaires**, comme celui de Tanene et de Tondon (Dubreka), de Maferinyah (Forecariah), ou de Farmoryah (Forecariah). Ces marchés rassemblent à la fois les cultivateurs des villages environnants, des vendeurs de poissons provenant des ports de pêche, et des commerçants venus de Conakry ou d'autres villes. Les conditions d'assainissement et d'accès à l'eau très précaires y constituent un terreau favorable à la propagation du choléra entre ces différentes zones. Des pics d'admission dans les jours suivant ces marchés ont ainsi été notés à plusieurs reprises dans les CTC avoisinants. Pour plusieurs cas index de localités rurales, le seul facteur de risque de choléra semble avoir été leur participation à un de ces grands marchés hebdomadaires dans les jours précédents. De même, le premier cas recensé à Conakry, le 29 mai, était un homme arrivant du marché de Kaback.

Inversement, une notion de **voyage récent à Conakry**, alors durement touchée par le choléra, a été retrouvée pour plusieurs cas index de foyers situés hors de la capitale : chauffeurs de taxi ou de camion ; commerçantes ; étudiants en vacances ; personnes parties rendre visite à un familier hospitalisé dans un CTC de Conakry... Ces malades ont été parfois à l'origine de chaînes de transmission bien identifiées. Ceci souligne de **rôle amplificateur de Conakry** dans la dynamique globale de l'épidémie, notamment dans son expansion vers les préfectures de l'intérieur, accessible quotidiennement depuis la capitale en bus ou en taxi-brousse. Un phénomène similaire a été observé en Sierra

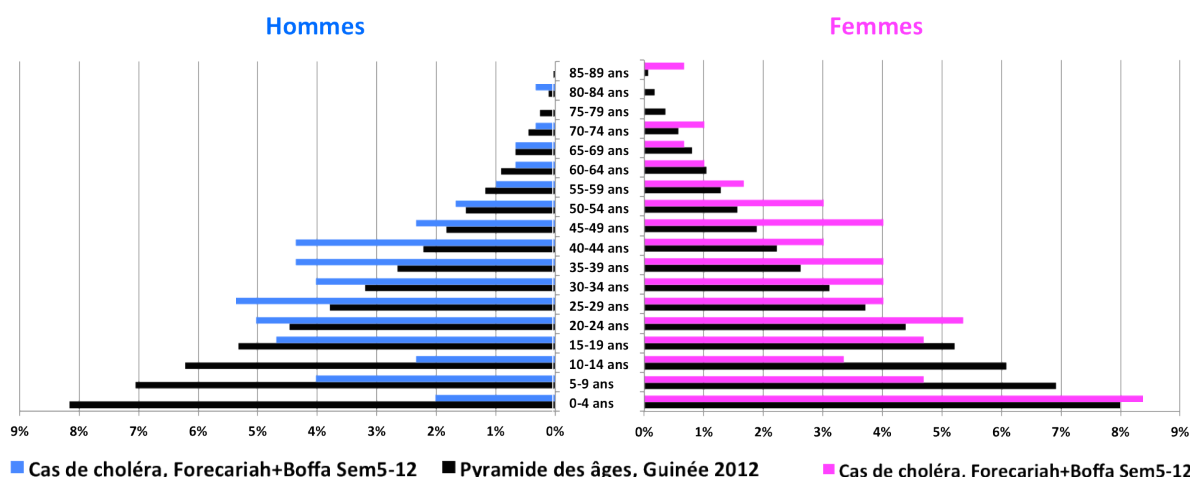
⁸ Ibid.

Leone, où une généralisation de l'épidémie à l'ensemble du pays a suivi son explosion à Freetown.

2.2.3 Poissons

La mission conjointe ECHO – UNICEF WCARO réalisée en Guinée et en Sierra Leone en mars-avril 2012 ⁹ avait suspecté le rôle de la manipulation du poisson dans la transmission du choléra. La mission avait remarqué que dans les zones insulaires, il existait au début d'épidémie une forte représentation des femmes travaillant à l'éviscération et au séchage des poissons avant leur commercialisation. L'analyse de la pyramide des âges des 299 cas de choléra recensés dans les préfectures de Forecariah et de Boffa pendant les 8 premières semaines de l'épidémie retrouve effectivement une proportion significative de cas chez les femmes adultes (Fig. 5). Néanmoins, les adultes de sexe masculin, exerçant notamment la profession de pêcheur, ont été eux-aussi particulièrement touchés. La situation pour les enfants est plus complexe : en prenant en compte la pyramide des âges de la population guinéenne estimée pour 2012 ¹⁰, le choléra apparaît globalement sous-représenté chez les enfants de moins de quinze ans, sauf chez les fillettes de moins de cinq ans (Fig. 5).

Figure 5 – Pyramide des âges des cas suspects de choléra recensés dans les préfectures de Forecariah et de Boffa au cours des 8 premières semaines de l'épidémie 2012.



Quelques observations supplémentaires plaident en faveur du rôle du commerce du poisson dans la propagation du choléra en Guinée en 2012. Par exemple, une épidémie de 12 cas survenue en une semaine au sein d'une concession de Yaneyah pourrait être liée à la consommation de poisson acheté au marché local à l'occasion de la fête de fin du Ramadan du 19 août. Dans cette petite localité de la s/pref de Moussayah, pref de Forecariah, située à plusieurs heures de piste du littoral, aucun des membre de la famille

⁹ ECHO - UNICEF WCARO joint mission on the evaluation of the sub-regional cholera project in Guinea and in Sierra Leone. Draft of trip report (26 Mars - 05 Avril 2012) UNICEF WCARO WASH Specialist (Francois Bellet), s. d.

¹⁰ Demographic Internet Staff US Census Bureau, « International Programs, International Data Base », consulté le 17 janvier 2013, <http://www.census.gov/population/international/data/idb/region.php>.

interrogée n'avait voyagé ou reçu de visite dans les jours précédents la survenue du cas index. Ce cas index, une femme de 42 ans tombée malade le 21, avait préparé ce poisson provenant apparemment de Conakry et vendu en « mauvais état » au marché local. Les cas secondaires suivront à compter du 23 août, date de son décès.

2.2.4 Ramadan, funérailles

Les personnels de plusieurs CTC ont aussi souligné l'impact possible de la **fête de fin du Ramadan** (19 août) sur cette épidémie. Outre la consommation de mets inhabituels (comme le poisson en zone non littorale), elle est également l'occasion de repas collectifs propices à la transmission interhumaine du choléra. A contrario, cette fête peut aussi être la source de toxi-infections alimentaires communautaires banales qui auraient pu artificiellement gonfler les registres de choléra dans les jours suivants. Pendant le **mois de Ramadan** (20 juillet-19 août), les repas collectifs et les ablutions à la mosquée pourraient avoir favorisé la transmission du choléra. D'un autre côté, la consommation de plusieurs repas souvent froids au cours de la journée a fait place, pendant le Ramadan, à la consommation le soir d'un repas unique et chaud, à risque plus limité de contamination. L'analyse globale de la liste linéaire des cas, ne montre cependant pas d'augmentation tangible des cas suspects de choléra pendant le mois de Ramadan, ou dans les jours suivant sa fin.

Comme dans de nombreux autres contextes, les **funérailles** de personnes décédées du choléra ont joué un rôle important dans la propagation de l'épidémie, de localités en localités. Ces cérémonies ont en effet été à l'origine de nombreux cas secondaires dont certains, de retour dans leur village d'origine, ont été les cas index de nouveaux foyers épidémiques. De telles chaînes de transmission ont par exemple été clairement établies dans les préfectures de Mamou en mai, ou de Kindia en juillet et août.

2.2.5 Pluie

Comme en 2007, l'épidémie de choléra 2012 en Guinée s'est distinguée par un début précoce en pleine saison sèche.

Alors qu'à Forecariah et Boffa, les pics épidémiques ont eu lieu avant l'arrivée de la saison des pluies, la propagation du choléra aux autres préfectures ne s'est produite qu'après.

Conakry, en dépit d'échanges de population importants avec Forecariah et Boffa, et malgré la survenue de quelques cas sporadiques en saison sèche, n'a vu l'épidémie vraiment exploser qu'au cours du mois de juillet (Fig. 1 et 3). Conformément à la tendance observée entre 2002 et 2007 ¹¹, l'arrivée précoce des premiers cas par rapport à celle de la saison des pluies a été associée à un pic particulièrement important à l'acmé des pluies. C'est lorsque les précipitations quotidiennes ont dépassé le seuil de 100 mm/24h, soit début juillet, que le nombre de cas recensés à Conakry a véritablement explosé. Ces précipitations importantes semblent avoir eu un effet « booster » sur la transmission du choléra, comme cela a par exemple été observé en Haïti en 2010-2011

¹¹ Sudre et Bompangue, *Epidémiologie du choléra et Evaluation du Système d'Alerte Précoce en République de Guinée*.

(résultats en cours de publication), en favorisant le mélange des eaux sales et des eaux propres.

Une tendance à l'augmentation du nombre de cas reçus dans les jours suivant de fortes précipitations a aussi été remarquée par les personnels de plusieurs CTC de province visités, dont celui de Maneah (pref de Coyah).

2.2.6 Réseau d'adduction d'eau

A **Conakry**, la diffusion très rapide des épidémies survenues entre 2003 et 2007 ¹² avait conduit à interroger le rôle d'une contamination du réseau d'adduction d'eau de la SEG (Société des Eaux de Guinée) dans la propagation du choléra. En 2012, l'épidémie a dès la semaine 23 affecté l'ensemble des 5 communes de la capitale – avec des incidences cumulées situées entre 15 à 28 cas /10000 habitants (Tableau 1) – et la quasi-totalité des quartiers. De fait, l'accès à l'eau et l'assainissement ne semblent guère s'y être améliorés ces dernières années.

Tableau 1 – Communes de Conakry en 2012. Démographie, distribution d'eau par la SEG, morbidité du choléra.

Commune	Population projetée en 2012	Volume d'eau distribué par la SEG de janvier à juillet 2012*		Choléra en 2012	
		Total (m ³)	Par habitant et par jour (L)	Nombre de cas recensés	Incidence cumulée (/10000hab)
Matam	258990	1376412	25	511	19,7
Ratoma	532357	9939243	88	1492	28,0
Matoto	640707	7144132	52	1448	22,6
Dixinn	242526	1766012	34	440	18,1
Kaloum	120173	1978896	77	176	14,6
Total Conakry	1794753	22204695	58	4067	22,7

SEG, Société des Eaux de Guinée

* répartition entre les 6 agences de la SEG de Conakry (agence de Wanindara comptant pour Ratoma ; agence de Kountiyah considérée comme rattachée à Coyah)

D'après les données fournies par la Direction Production et Réseau de la SEG, le volume d'eau distribué par habitant entre janvier et juillet 2012 est du même ordre de grandeur d'une commune à l'autre, entre 25 et 88 litres d'eau par personne et par jour. A l'échelle communale, aucune tendance ne se dessine entre le volume distribué par jour et par habitant d'une part, et l'incidence cumulée du choléra d'autre part. Une analyse plus fine à l'échelle des quartiers n'a pas pu être réalisée du fait de la double imprécision géographique du lieu d'habitation des malades pris en charge dans les CTC de Conakry et de la répartition de l'eau distribuée par la SEG.

Les zones de Conakry desservies 24h/24 s'avèrent extrêmement limitées, et la majeure partie de la ville vit au rythme des coupures – par chute de pression ou par délestage – ou bien se trouve en situation de manque total d'eau. Outre une production insuffisante, l'accès à l'eau à Conakry pâtit également d'un réseau de distribution obsolète. Par

¹² Bertrand Sudre, *Projet de préparation aux épidémies de choléra à Conakry, Guinée. Épidémiologie du choléra dans la ville de Conakry (République de Guinée). Étude rétrospective des facteurs de risque dans la ville de Conakry* (UNICEF Conakry - ACF, mai 2010), <http://ochaonline.un.org/CoordinationIASC/WASH/tabid/5629/language/fr-FR/Default.aspx>.

manque d'investissement, les tuyaux sont saturés en matières organiques qui consomment le chlore ajouté au niveau des sites de production et des réservoirs. Beaucoup de canalisations sont déterrées et exposées aux lixiviats des décharges à ciel ouvert qui jonchent la ville, et aux eaux stagnantes et polluées particulièrement répandues en saison des pluies. Les fuites d'eau sont nombreuses – entre janvier et juillet 2012 la SEG fait état d'un rendement technique (volume consommé / volume produit) de seulement 61,4%.

Face à de tels risques de contamination du réseau, l'OMS recommande une concentration de chlore résiduel libre (CRL) à 0,3-0,5 mg/L. Le cahier des charges de la SEG fixe un CRL cible à 0,5-1 mg/L dans les réservoirs et 0,15-0,3 mg/L au robinet. Des contrôles de potabilité mesurant notamment turbidité, CRL et coliformes fécaux sont effectués quotidiennement par la SEG au sein d'un laboratoire interne. Malheureusement, nous n'avons pu en obtenir les résultats. Des contrôles externes sont par ailleurs sous-traités et payés par la SEG au laboratoire de l'Office de Contrôle de la Qualité (Ministère du Commerce), qui réalise tous les mois des analyses physico-chimiques et bactériologiques sur 25 prélèvements au robinet. En 2010, une mission d'évaluation menée conjointement par la Direction Nationale de l'Hygiène Publique (DNHP, Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique) et l'OMS avait noté d'importants dysfonctionnements dans ce laboratoire ; elle avait alors recommandé de ne pas le pré-qualifier pour le contrôle de la qualité des eaux de boisson ¹³. Nous n'avons pu, au cours de notre mission, vérifier si des améliorations avaient été réalisées.

Dans le cadre d'un programme indépendant de surveillance de la qualité de l'eau, la DNHP dispose d'un personnel compétent et de deux kits Potatest® permettant la mesure des paramètres physico-chimiques de l'eau dont le chlore résiduel ainsi que la recherche de coliformes fécaux. Ne recevant aucune ressource régulière pour les consommables, elle se limite à la réalisation d'études occasionnelles et d'ampleur limitée. En août 2012, en pleine saison des pluies, quelques contrôles ont été réalisés au niveau des points d'eau des 7 centres de santé appuyés par l'ONG Terre des Hommes ¹⁴. La concentration de chlore résiduel dans l'eau de la SEG, mesurée dans les quartiers de Kobaya et Lambanyi, était à seulement 0,1 mg/L ; un prélèvement sur cinq, réalisé à Lambanyi, retrouvait 16 coliformes fécaux /100 mL. Aucun des forages explorés ne présentait de contamination par des coliformes, en dépit d'une absence de chlore résiduel. En 2009, une étude menée à Conakry par la London School of Hygiene and Tropical Medicine ¹⁵ n'avait retrouvé des coliformes fécaux que dans 10% des prélèvements au robinet (effectifs et méthodologie non spécifiés).

La distribution intermittente de l'eau oblige les familles de Conakry à stocker l'eau au domicile pendant souvent plusieurs jours. Comme l'ont montré les enquêtes de

¹³ Centre Régional pour l'Eau Potable et l'Assainissement à faible coût (CREPA), Centre collaborant de l'OMS, *Évaluation des laboratoires d'analyse de la qualité de l'eau de boisson en vue de leur pré-qualification* (Direction nationale de l'Hygiène publique de la République de Guinée, Organisation Mondiale de la Santé, mars 2010).

¹⁴ Direction Nationale Hygiène Publique (DNHP), *Rapport de la surveillance de la qualité de l'eau du mois d'août 2012 dans les 7 centres de santé appuyés par la délégation de Terre des hommes* (Conakry, Guinée: Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique de la République de Guinée, 2012).

¹⁵ Sandy Cairncross, Jeroen Ensink, et Tanya Kahawita, *Evaluation of the WASH activities undertaken to prevent and control cholera outbreaks in Guinea-Conakry & Guinea-Bissau & Systematic Literature review (June 2009 – December 2009)* (London School of Hygiene and Tropical Medicine, ECHO, Unicef, USAID, 2009).

vulnérabilité des ménages réalisées par la London School ¹⁶ et par ACF-Espagne en 2009-2010 ¹⁷, les récipients utilisés ne sont pas toujours protégés. En outre, une part importante des ménages ne recourt pas au traitement intradomiciliaire de cette eau par des produits de chloration comme le Sur'eau®. De fait, le chlore résiduel était absent de la plupart des récipients de stockage testés par la London School. Comme dans d'autres travaux conduits par la DNHP, des coliformes fécaux étaient par contre souvent retrouvés. Ceci démontre la fréquente contamination intra-domiciliaire de l'eau de boisson, via les mains sales ou les ustensiles. Un chlore résiduel à 0,5 mg/L au robinet permettrait pourtant théoriquement de garantir une conservation de l'eau pendant quelques jours. Faute de financement et malgré l'épidémie de choléra, la SEG n'avait toujours pas, d'après nos informations au 5 septembre 2012, procédé au rehaussement de ses niveaux de chloration à Conakry.

La population de la capitale a également fréquemment recours à des puits traditionnels.. Souvent peu profonds, mal protégés et construits à proximité de latrines non améliorées, ils sont aisément contaminables. Dans son étude du mois d'août 2012, la DNHP avait retrouvé une concentration importante de coliformes fécaux dans un puits de Lambanyi ¹⁸.

Une situation comparable a été observée dans les villes de province, notamment à **Coyah** et **Kindia**.

Afin de mieux préciser le rôle potentiel de l'eau distribuée dans la dynamique de l'épidémie de choléra en milieu urbain, il aurait été nécessaire d'effectuer une étude de potabilité de grande ampleur pendant la saison des pluies à Conakry. Une telle étude était planifiée pour le mois d'août par la DNHP et l'INSP (Institut National de Santé Publique), et financée par l'OMS. En novembre 2012, elle n'avait malheureusement pas débuté.

2.2.7 Campagnes de vaccination anti-cholériques

Au cours de l'épidémie 2012, trois campagnes de vaccination de masse contre le choléra ont été menées sur le littoral guinéen.

Dans six sous-préfectures maritimes de Boffa, MSF-Suisse a ainsi administré le vaccin Shanchol® (Shantha Biotechnics, Inde) à plus de 143000 personnes (couverture vaccinale [CV] globale de 75,8% ¹⁹). La campagne s'est déroulée entre le 18 avril et le 14 mai (semaine 16 – semaine 20), c'est à dire après la fin du premier pic de choléra. Après que l'épidémie se fût initialement concentrée dans les sous-préfectures de Boffa-Centre et Douprou (semaine 7 – semaine 19), Boffa n'a plus enregistré aucun cas jusqu'à la semaine 31. Un nouveau pic est alors survenu à Koba, sous-préfecture où la couverture

¹⁶ Ibid.

¹⁷ Sudre, *Projet de préparation aux épidémies de choléra à Conakry, Guinée. Épidémiologie du choléra dans la ville de Conakry (République de Guinée). Étude rétrospective des facteurs de risque dans la ville de Conakry.*

¹⁸ Direction Nationale Hygiène Publique (DNHP), *Rapport de la surveillance de la qualité de l'eau du mois d'août 2012 dans les 7 centres de santé appuyés par la délégation de Terre des hommes.*

¹⁹ Francisco J Luquero et Rebecca F Grais, *Utilisation du vaccin anticholérique oral en réponse à une épidémie, République de Guinée, 2012 : Enquêtes de couverture vaccinale* (Paris, France: Epicentre, Médecins Sans Frontières, Ministère de la Santé de la République de Guinée, 2012).

vaccinale a semble-t-il été la plus faible (69%). Une grande partie de la centaine de malades impliqués n'avait semble-t-il pas été vaccinée.

MSF-Suisse a ensuite utilisé les doses restantes pour vacciner près de 27000 personnes dans deux sous-préfectures maritimes de Forecariah (Kaback et Kakossa, CV globale de 75,9% ²⁰). Cette campagne s'est déroulée du 27 mai au 15 juin (sem 21 – sem 24), c'est à dire au cours du second pic de choléra à Kaback. Aucune résurgence importante n'a été constatée par la suite.

Des estimations d'efficacité vaccinale sont en cours de réalisation par Epicentre, dont les résultats seront essentiels pour discuter l'opportunité d'un recours plus systématique à la vaccination des communautés de pêcheurs de la région et des villages agricoles qui les jouxtent. Leur interprétation s'annonce difficile. Il sera nécessaire de prendre en compte à la fois la spatialisation de la couverture vaccinale et de la survenue des cas à une échelle fine, et les mesures de sensibilisation qui ont visiblement accompagné ces campagnes de vaccination et qui peuvent représenter un facteur de confusion voire d'interaction.

En octobre, 7650 personnes ont été vaccinées par la DPLM sur l'île de Katcheck (préfecture de Boké). Cette île avait été la première touchée en 2008. En 2012, seuls quelques cas semblent avoir été recensés fin août-début septembre.

Enfin, 8050 pèlerins partis fin octobre à la Mecque ont également bénéficié de la vaccination par le vaccin Shanchol®.

2.3 Épidémiologie moléculaire par MLVA

Sur les 50 souches cliniques guinéennes de *Vibrio cholerae* transmises par l'INSP et expédiées à Marseille, 35 ont pu être repiquées ; 13 autres n'ont pas poussé malgré l'emploi de divers milieux de culture; les deux dernières étaient trop contaminées pour être réisolées. Il a été possible d'extraire de l'ADN en quantité et qualité suffisantes de toutes les souches repiquées. Par ailleurs, nous avons aussi essayé d'extraire l'ADN à partir du milieu de transport pour les 13 souches qui n'avaient pas poussé. Procédant ainsi, nous avons pu obtenir un génotypage complet (soit 6 marqueurs microsatellite [VNTR]) pour 38 souches (34 souches des 35 souches cultivées et 4 des 13 souches extraites). Des marqueurs microsatellites demeurent manquants pour les 10 souches restantes.

Trois des six microsatellites étudiés (VC1, VC4, LAV8) sont restés constants pour toutes les souches, montrant ainsi qu'il s'agit de souches proches. Un polymorphisme a été observé sur les trois microsatellites restant (VC4, VC9, LAV6), permettant de définir 11 profils génotypiques différents. Ces 11 génotypes sont cependant très fortement liés (Fig. 6). Tous semblent découler d'un même génotype (génotype 2A), qui est à la fois le plus représenté (14 souches sur 38) et le plus ancien (il était présent sur l'île de Kaback dès le mois de février).

Au total, l'épidémiologie moléculaire réalisée par MLVA (Analyse de plusieurs locus VNTR) montre que les 38 souches étudiées dérivent très probablement d'une souche

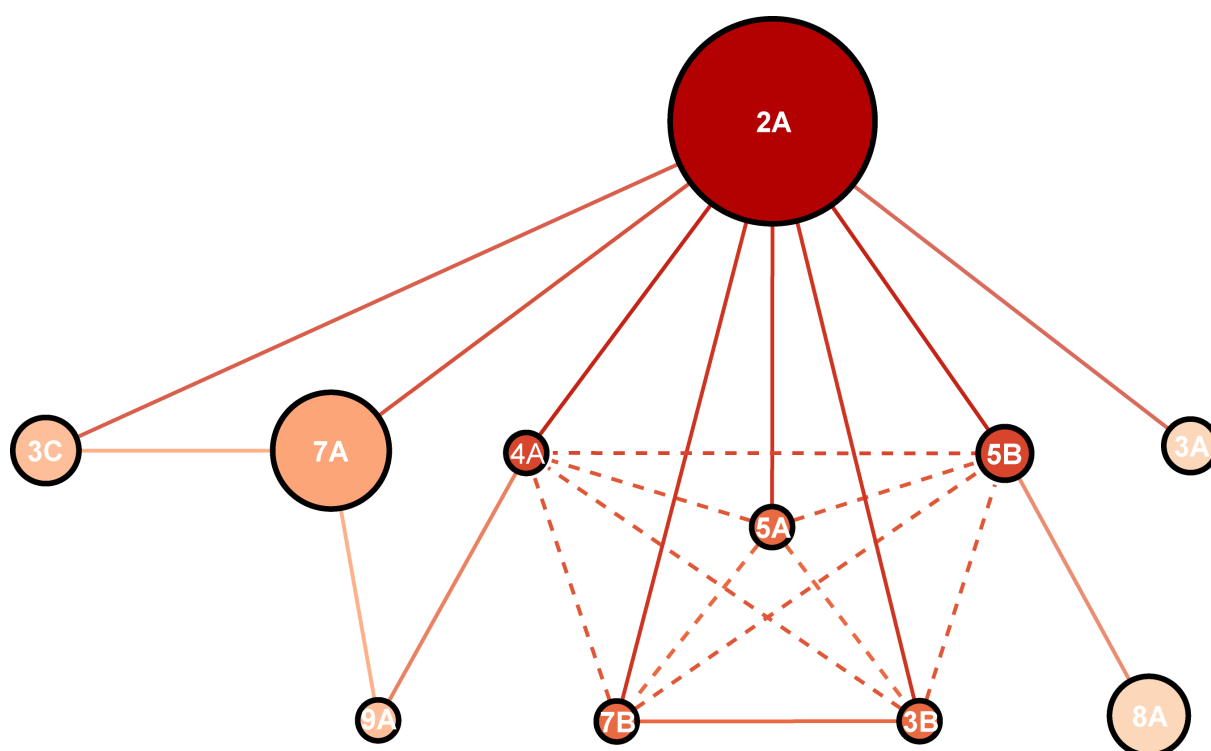
²⁰ Luquero et Grais, *Utilisation du vaccin anticholérique oral en réponse à une épidémie, République de Guinée, 2012 : Enquêtes de couverture vaccinale*.

commune (de génotype 2A) isolée dès le mois de février à Kaback. Ceci conforte l'hypothèse d'une origine importée du choléra en Guinée en 2012. Une origine environnementale aurait plus volontiers conduit à la mise en évidence d'une plus grande diversité génétique des souches isolées dès le début de l'épidémie.

Par ailleurs, la méthode de génotypage à partir des buvards secs recueillis en Guinée et en Sierra Leone lors de la mission est en cours de mise au point. Cette méthode, jamais utilisée auparavant, devrait, si elle fonctionne bien, grandement simplifier l'échantillonnage de *Vibrio cholerae* dans les zones dépourvues de laboratoire de bactériologie ainsi que les procédures de transport international des échantillons vers les laboratoires de génotypage.

Figure 6 – Génotypage par MLVA de 38 souches cliniques de *Vibrio cholerae* isolées en Guinée en 2012. Représentation schématique des relations entre les génotypes identifiés.

Chaque identifiant correspond à un génotype particulier, le chiffre indiquant le mois au cours duquel chaque génotype a été isolé pour la première fois. La taille des disques est proportionnelle au nombre de souches représentées. La couleur des disques est indicative du nombre de connections de ce génotype avec les autres. Chaque segment correspond à une mutation sur l'un des six microsattellites génotypés.



2.4 Séquençage total d'une des souches isolée en Guinée

Afin de mieux caractériser le *Vibrio cholerae* O1 El Tor impliqué dans cette épidémie 2012 et d'en explorer l'origine, nous avons réalisé le séquençage total d'une souche isolée le 28 février 2012 à Kaback (de génotype 2A en MLVA). Nous avons ensuite, à partir des séquences de *Vibrio cholerae* disponibles dans les bases de données du NCBI

(www.ncbi.nlm.nih.gov), annoté les 3,1 millions de paires de bases constituant ses deux chromosomes, et analysé les principaux gènes responsables de son pouvoir pathogène.

Cette souche guinéenne s'avère ainsi être un variant « atypique » de *V. cholerae* El Tor. Son génome comprend à la fois une majorité de gènes El Tor (biotype des souches de la 7^e pandémie [1961-...]), et quelques gènes caractéristiques des souches de biotype Classique (responsables de la 6^e pandémie [1899-1923]) (Fig. 7).

En particulier, certains gènes en lien avec la production de toxine sont caractéristiques du biotype classique ²¹ (gène *ctxB* qui code pour la sous-unité β de la toxine cholérique) tandis que d'autres proviennent d'un génome de type El Tor (*zot*, *ace*, *cep*). De ce fait, le prophage CTX Φ contenu dans le génome de cette souche n'est ni de type classique, ni de type El Tor, mais hybride. Notons que les variants atypiques ont émergé en Asie au cours des deux dernières décennies, avant de s'étendre au reste du monde en vagues successives ²². En Afrique, ils ont été décrits pour la première fois au Mozambique en 2004 ²³. Il s'agissait cependant d'un variant différent de celui que nous venons de décrire en Guinée. Notons enfin, qu'aucun variant atypique n'avait jusqu'ici été isolé en Guinée ou en Sierra Leone. Ainsi, les résultats du séquençage renforcent encore l'hypothèse d'une origine importée de l'épidémie de choléra de 2012.

D'un point de vue médical, la présence de gènes de type classique dans le génome de cette souche, lui confère un caractère pathogène plus marqué

En effet, les souches El Tor atypiques sont connues pour posséder un pouvoir pathogène plus important que celui des souches El Tor habituelles, donnant plus fréquemment des formes sévères. De telles souches ont été impliquées ces dernières années dans plusieurs épidémies d'ampleur remarquable (Zimbabwe 2008-2009, Bassin du Lac Tchad 2009-2011 et Haïti 2010-). De fait, l'épidémie de Guinée et de Sierra Leone en 2012 a présenté une ampleur inhabituelle, comparable uniquement à celle de l'épidémie de 1994-1995 ²⁴.

²¹ Ashrafus Safa, G Balakrish Nair, et Richard Y C Kong, « Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1 », *Trends in microbiology* 18, n° 1 (janvier 2010): 46 - 54, doi:10.1016/j.tim.2009.10.003.

²² Ankur Mutreja et al., « Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic », *Nature* 477, n° 7365 (22 septembre 2011): 462-465, doi:10.1038/nature10392.

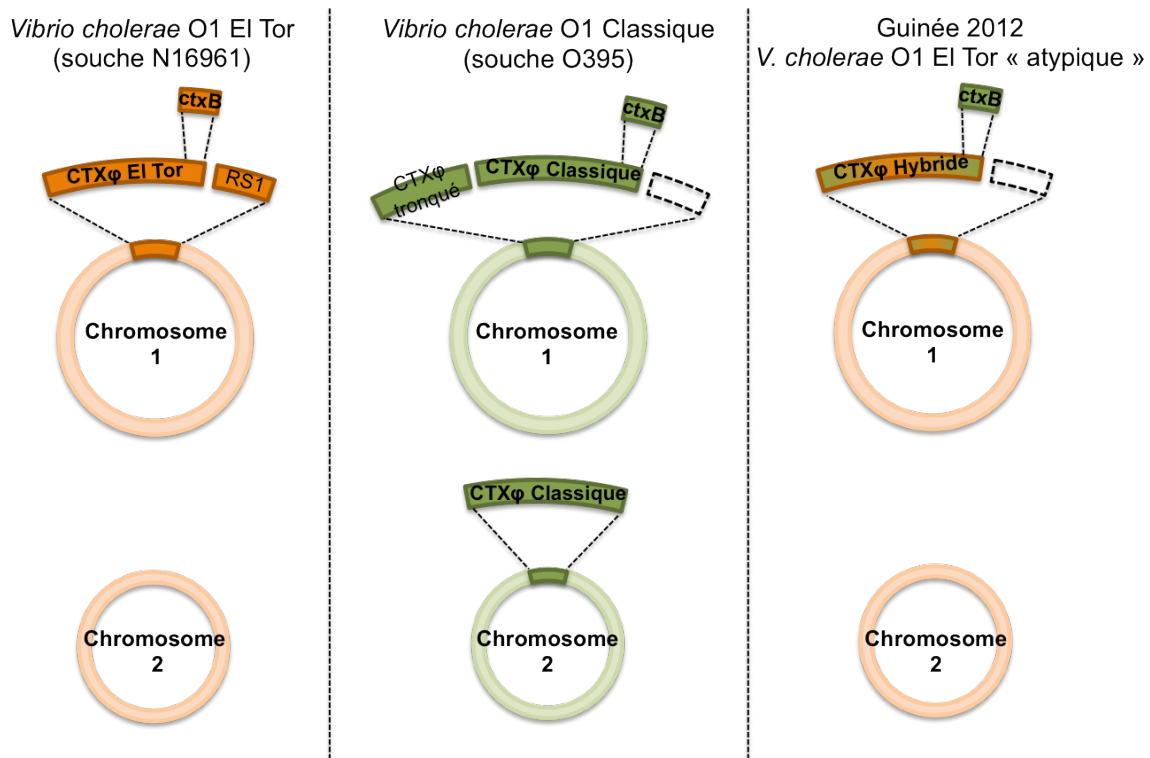
²³ M Ansaruzzaman et al., « Cholera in Mozambique, variant of *Vibrio cholerae* », *Emerging Infectious Diseases* 10, n° 11 (novembre 2004): 2057 - 2059.

²⁴ World Health Organization, « Cholera [every year since 1968] ».

Figure 7 – Comparaison de la structure génomique des îlots de pathogénicité principaux de la souche de *V. cholerae* isolée en 2012 en Guinée, de la souche EI Tor de référence (7e Pandémie, en orange) et de la souche Classique de référence (6e Pandémie, en vert)

CTX ϕ , prophage porteur des gènes codant pour la toxine cholérique

ctxB, gène codant pour la sous-unité B de la toxine cholérique



2.5 Recherche de vibrios environnementaux

Une recherche de vibrios a été tentée sur 2 types d'échantillons environnementaux afin d'explorer l'hypothèse d'un réservoir environnemental de *Vibrio cholerae* O1 toxigène en période épidémique. Cette recherche, qui s'est appuyée sur l'expertise bactériologique du laboratoire de référence de l'INSP a porté sur :

- (1) Un pool d'intestins de 5 poissons d'espèces différentes achetés sur une plage de Kaback et placés dans un flacon d'eau peptonée alcaline (EPA) en attendant leur mise en culture
- (2) De l'eau prélevée au niveau de bras de mer, d'estuaires ou de puits, grâce à une adaptation du tampon de Moore (voir section *Annexe méthodologique*)

Les résultats de ces cultures sont représentés dans le Tableau 2. Ils montrent que la présence de vibrios dans l'environnement maritime guinéen est avérée. Des résultats similaires avaient déjà été obtenus lors d'études de microbiologie environnementale réalisées dans d'autres régions côtières africaines. Les échantillons que nous avons collectés n'ont en revanche pas permis, en contexte épidémique, d'isoler une souche de *V. cholerae* susceptible de provoquer le choléra. Si les 3 souches de vibrios mises en évidence ne sont pas connues pour sécréter la toxine cholérique (contrairement au *V.*

cholerae O1 El Tor, El Tor « atypiques » et, de manière restreinte en Asie, *V. cholerae* O139), elles peuvent cependant être source de diarrhées banales.

Tableau 2 – Recherches de vibrios environnementaux effectuées lors de la mission en Guinée et Sierra Leone

Type d'échantillon	Prélèvement		Résultat de culture à l'INSP		Résultat du repiquage à Marseille
	Lieu	Date			
Lot d'intestins de poissons	Ile de Kaback	28/08/12	<i>Vibrio cholerae</i> non-O1	➔	Echec de culture
			<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	➔	<i>V. parahaemolyticus</i>
Bras de mer	Ile de Kaback	28/8/12	<i>Vibrio cholerae</i> non-O1	➔	<i>Vibrio cholerae</i> non-O1
Puit	Taboria (Boffa)	31/8/12	Négatif		
Puit	Kindia	8/9/12	Négatif		
Estuaire	Rivière Kolenté, Sierra Leone	12/9/12	Négatif		
Puit	Mabolo (Kambia, Sierra Leone)	12/9/12	Négatif		

Ces résultats démontrent surtout la faisabilité et le faible coût de réalisation de la recherche de vibrios dans l'environnement en Guinée. Ils incitent fortement à poursuivre ce travail exploratoire sur des échantillons plus larges. Dans un premier temps, ces recherches pourraient cibler poissons et bras de mer à Conakry, en attendant la réalisation d'études dans les îles et les mangroves guinéennes.

3. Conclusion

Pris ensembles, les résultats de cette étude suggèrent fortement l'origine importée du choléra en 2012 en Guinée. Selon la cartographie dynamique réalisée à partir de la base linéaire des cas suspects recensés, l'île de Kaback apparaît comme la source de l'épidémie début février. Les enquêtes de terrain confirment que le cas index était un pêcheur tout juste arrivé d'un village situé en Sierra Leone dans une zone alors affectée par l'épidémie depuis plusieurs semaines. L'épidémiologie moléculaire réalisée à partir de plusieurs dizaines de souches cliniques de *Vibrio cholerae* isolées en Guinée entre février et septembre met en évidence une diversification génétique progressive au cours de l'épidémie, à partir d'un génotype unique présent dès le début à Kaback. Enfin, le séquençage d'un vibrio isolé en février à Kaback montre que cette épidémie 2012 a été causée par une souche El Tor « atypique », que l'on sait avoir émergé il y a moins d'une dizaine d'années en Asie, et être arrivé encore plus récemment sur le continent africain. Il est ainsi très improbable qu'elle ait été présente dans l'environnement côtier avant le début de l'épidémie.

Après son émergence en saison sèche, l'épidémie a dans un premier temps progressé via les mouvements de pêcheurs le long du littoral guinéen. Les premiers cas à Conakry ont été recensés tôt dans la saison. Et suivant un scénario prévisible, l'arrivée des fortes pluies en juillet a vu l'épidémie exploser sur l'ensemble de la capitale, profitant de conditions d'accès à l'eau et d'un assainissement global très médiocres. Contrairement à ce qui était envisagé, aucune étude indépendante de potabilité n'a été réalisée à cette occasion et, faute de financement, le niveau de chloration de l'eau délivrée n'a pas été rehaussé lorsque l'épidémie battait son plein. Cependant, le rôle joué par le réseau d'adduction d'eau de la SEG dans la propagation de l'épidémie est difficile à établir. La transmission du choléra a aussi pu profiter de la contamination des réserves d'eau intradomiciliaires. Dans ce cas, la vente généralisée et à faible coût de produits de chloration comme le Sur'eau® pourrait avoir limité l'ampleur de l'épidémie dans la capitale.

Etant connecté à l'ensemble du pays, Conakry a joué un rôle de plaque tournante dans l'épidémie qui a ainsi pu progresser vers l'intérieur, par des voyageurs incubant la maladie. La transmission du choléra a également profité des importants rassemblements de population que constituent les marchés hebdomadaires. Des funérailles de personnes décédées du choléra ont également été à l'origine d'un certain nombre d'épidémies en zone rurale. Le commerce du poisson, enfin, pourrait également avoir joué un rôle dans la pénétration de l'épidémie dans l'intérieur.

Avec une incidence cumulée à 6 cas/10000 hab, l'épidémie 2012 a frappé à peine un peu moins durement la Guinée que celle de 2007 (8 cas /10000 hab). Avec une incidence cumulée à 38 cas/10000 hab, la Sierra Leone a de son côté connu la plus grosse épidémie depuis 1994. L'ampleur inhabituelle de cette épidémie transfrontalière pourrait être liée au caractère plus sévère de la souche El Tor « atypique » impliquée. Dans ces conditions, et contrairement à la Sierra Leone, la Guinée semble avoir « limité la casse », bénéficiant à la fois du Système d'Alerte Précoce mis en place suite aux épidémies des années 2000, et d'une application efficacement coordonnée de la stratégie « bouclier-coup de poing ». L'une et l'autre avaient bénéficié de précédents travaux de recherche opérationnelle sur l'épidémiologie du choléra en Guinée ²⁵.

²⁵ Sudre et Bompangue, *Epidémiologie du choléra et Evaluation du Système d'Alerte Précoce en République de Guinée*; Sudre, *Projet de préparation aux épidémies de choléra à Conakry, Guinée. Épidémiologie du*

Mettant clairement en évidence l'origine importée du choléra en Guinée et en Sierra Leone, et pointant du doigt quelques déterminants importants de sa dynamique dans la région, la présente étude permet donc de proposer quelques recommandations.

4. Recommandations

Visant à mieux détecter les épidémies de choléra en amont de leur survenue en Guinée :

1. Renforcer la communication et la coopération transfrontalières entre la Guinée et ses pays voisins.

Avant de frapper la Guinée, l'épidémie de 2012 évoluait depuis déjà des semaines en Sierra Leone. Dans ce pays, une détection plus précoce de cette épidémie naissante et une lutte plus efficace auraient pu éviter à la fois son extension à la Guinée et la flambée survenue par la suite lors de la saison des pluies.

Visant à limiter le risque de propagation du choléra en Guinée :

2. Envisager une vaccination ciblée des communautés de pêcheurs contre le choléra.

3. Sensibiliser et sécuriser l'accès à l'eau des communautés de pêcheurs

Les résultats de notre étude montrent clairement le rôle essentiel joué par les pêcheurs se déplaçant le long des côtes dans la diffusion initiale du choléra. Protéger les pêcheurs contre le choléra aurait non seulement un effet direct sur ces sujets qui paient un lourd tribut à la maladie, mais aussi un effet indirect sur le reste de la population qui est touché secondairement. La lutte menée au bénéfice des pêcheurs doit reposer sur la sécurisation des approvisionnements en eau. Un recours ciblé à la vaccination en période inter-épidémique est une option sérieuse à envisager. Notons que l'efficacité des campagnes de vaccinations réalisées en 2012 à Boffa et Forecariah devra être évaluée au préalable et que pour être pleinement efficace, cette vaccination ciblée devrait être également réalisée dans les pays limitrophes.

Visant à mieux détecter les épidémies de choléra lors de leur arrivée en Guinée :

4. Nommer des agents de santé communautaires dédiés aux principaux ports de pêche.

5. Pré-positionner des tests de diagnostic rapide et des milieux de transports Carry-Blair dans les centres de santé des sites sentinelle.

Les épidémies qui ont frappé la Guinée ces dernières années ont toutes débuté au niveau des principaux ports de pêche des sous-préfectures de Kaback, Kakossa, Koba, Boffa Centre, Douprou, Kamsar, Kanfarande et de la ville de Conakry. C'est là que, pour détecter au plus vite une épidémie naissante, des agents de santé communautaire dédiés pourraient être nommés afin de renforcer la surveillance syndromique des cas groupés de diarrhées. Les contacts avec les communautés de pêcheurs sont essentiels et toute rumeur de cas de diarrhée aiguë sévère devrait donner lieu à une investigation.

Par ailleurs, des tests de diagnostic rapide du choléra et des milieux de transport Carry-Blair doivent être pré-positionnés dans les centres de santé de sites sentinelle.

Visant à mieux adapter la riposte aux voies de propagation du choléra en Guinée :

6. Réhausser le niveau de chloration de l'eau distribuée par la SEG à 0,5 mg/L.

En plus de garantir un chlore résiduel à 0,3 mg/L en période inter-épidémique, la SEG doit être en mesure de rehausser son niveau de chloration à 0,5 mg/L en cas d'épidémie de choléra, afin de s'assurer d'un effet rémanent limitant la contamination intra-domiciliaire. Si elle avait été appliquée au moment où l'épidémie commençait, cette mesure aurait permis de ralentir la progression du choléra à Conakry et vers l'intérieur de la Guinée.

L'ensemble de ces recommandations recouvre donc les deux volets de la stratégie « bouclier – coup de poing ». Au premier correspondent les recommandations #1, #2, #3, #4 et #5. Au second les recommandations #4, #5 et #6.

Recommandations secondaires :

Nos investigations ont mis en évidence des voies de propagations électives du choléra dès lors que l'épidémie prend de l'ampleur. Nous avons ainsi vu que Conakry joue un rôle de plaque tournante, tandis que les principaux axes routiers permettent au choléra de diffuser à l'intérieur des terres. A une échelle plus locale, l'enquête de terrain a montré le rôle joué par les marchés, soit par le biais des concentrations humaines qu'ils génèrent, soit via les aliments commercialisés, en particulier les poissons. Il est important de prendre en compte ces déterminants de la propagation du choléra en Guinée dans la définition d'une stratégie de riposte adaptée.

Pour mieux cerner les conditions de propagation de la bactérie, une étude de potabilité au robinet associant la recherche de coliformes fécaux et de *Vibrio cholerae* devrait être réalisée en cas de nouvelle épidémie. De même, il serait très important de mieux cerner par des analyses microbiologiques réalisées en cours d'épidémie, le rôle joué par les poissons et autres produits marins dans la propagation du choléra via l'alimentation.

Au niveau du laboratoire de référence (laboratoire de l'INSP), il conviendrait d'améliorer les performances diagnostiques en sécurisant l'alimentation électrique de la climatisation, des étuves, du frigo et de la hotte au moyen d'un groupe électrogène dédié et d'une dotation spécifique en carburant.

5. Annexe méthodologique

5.1 Déroulement de la mission sur le terrain

La mission de terrain du Dr Stanislas REBAUDET s'est déroulée du 21/08/2012 au 18/09/2012, dans 3 lieux principaux :

- **Conakry**, où les déplacements ont été effectués pour la plupart en taxi.
- Les **préfectures guinéennes** affectées par le choléra : Forecariah, Coyah, Dubreka, Boffa, Boke, Kindia, Mamou. En raison de leur éloignement et de l'évolution rapidement favorable de l'épidémie, Kankan et Kerouane n'ont pu être visitées. Les déplacements en Guinée ont bénéficié du soutien logistique de la DPLM, et ont été effectués en compagnie du Dr Yacouba KANDÉ (médecin chargé de la vaccination et de la riposte aux épidémies à la DPLM) et de Seikou KEITA (chauffeur à la DPLM)
- La **Sierra Leone** : district de Kambia, district de Port Loko, et Freetown. Cette tournée a bénéficié du support logistique de l'Unicef-Guinée jusqu'à la frontière sierra-léonaise puis de l'Unicef-Sierra Leone au-delà, et a été réalisée en compagnie de Yagouba DIALLO (WASH specialist à l'Unicef-Guinée), du Dr Samuel PRATT (consultant santé à l'Unicef-Sierra Leone), de Akysane SESEW (surveillance officer du district de Kambia) et, à Freetown, d'Harold THOMAS (health communication officer, Direction of Disease Prevention and Control, Ministry of Health and Sanitation).

Le déroulé des activités quotidiennes est résumé dans le Tableau 3.

Tableau 3 – Déroulement de la mission effectuée en Guinée et en Sierra Leone du 21 août au 18 septembre 2012

Date	Activités
Mar 21/08/2012	• Voyage depuis Marseille et accueil à l'aéroport de Conakry
Mer 22/08/2012 Conakry	• Accueil à l'Unicef-Guinée par Alama KEITA, WASH specialist • Discussions avec Lalit PATRA, Chief WASH, concernant les objectifs et termes de référence de cette mission. • Réunion extraordinaire du Comité de Crise – Riposte à l'épidémie de choléra, dans les locaux de l'OMS. • Réunion avec le Dr Sakoba KEITA (Chef de la DPLM), en présence d'Alama KEITA (Unicef), du Dr KANDÉ (DPLM), du Dr A. Karim DIALLO et de Bangoura Fode Ousmane (OMS), et du Dr Tata GAKOU (DSVCo). Présentation et discussion des objectifs de la mission.
Jeu 23/08/2012 Conakry	• Réunion d'organisation avec le Dr Yacouba KANDÉ (DPLM), puis avec le Dr Sakoba KEITA. • Réunion de travail avec le Dr Ousmane YATTARA, data manager à la DPLM : bases de données, fonds de carte, techniques cartographiques • Réunion avec le Dr Lamine KOIVOGUI, Directeur de l'INSP où se trouve le laboratoire de microbiologie. Présentation de notre mission et discussions techniques diverses.
Ven 24/08/2012 Conakry	• Réunion avec le Dr Iza CIGLENECKI (épidémiologiste à MSF-Suisse en mission de suivi concernant la vaccination dans les préfectures de Forecariah et de Boffa). Présentation du projet. • Réunion avec le Dr Lamine KOIVOGUI (Directeur de l'INSP). Préparation d'un protocole exploratoire de recherche de <i>V. cholerae</i> dans l'eau et les intestins de poissons. • Réunion de suivi avec Dr Sakoba KEITA
Sam 25/08/12 Conakry	• Réunion de travail avec le Dr Lamine KOIVOGUI • Réunion de suivi avec le Dr Sakoba KEITA • Réunion de travail avec M. Lamine BARRY (épidémiologiste au PEV) : base de données de population, fonds de cartes, techniques cartographiques
Dim 26/08/12 Conakry	• Travail personnel
Lun 27/08/12 Préf de Forecariah	• Trajet vers Forécariah • Réunion de travail à la DPS de Forécariah avec le Dr DANSOKO (DPS intérimaire), le Dr SYLLA (MCM) concernant la situation du choléra dans la préfecture

	<ul style="list-style-type: none"> Trajet vers la sous-préfecture de Mousaya, dont plusieurs localités ont été frappées récemment. Réunion avec le chef de centre intérimaire de Mousaya (Dr Abdoulaye BANGOURA). Dépôt de matériel de prélèvement de selles cholériformes (buvards et passes-têtes) et instructions concernant la technique de prélèvement. Trajet vers la localité de Dianeya en compagnie de M. Lansana BANGOURA, sous-préfet de Mousaya. Réunion avec le comité de village. Visite d'une concession affectée la semaine précédente et discussion avec les familles. Nuit chez le sous-préfet de Mousaya
Mar 28/08/12 Préf de Forécariah	<ul style="list-style-type: none"> Retour vers Forécariah. Discussions avec le DPS (Dr DANSOKO), et le point focal Africhol (Dr Fode Sory KOUROUMA). Trajet vers l'île Kaback. Discussion avec M. Momo BANGORA (agent de santé communautaire et Vice-Président du Comité d'Hygiène), M. BARRY (agent de santé communautaire), un enquêteur MSF et le Dr AGUIBOU (Point focal Africhol). Visite du village de pêcheur de Dabonkoré touché en juin 2012. Prélèvements d'intestins de poissons fraîchement pêchés. Prélèvement d'un échantillon d'eau dans un tiguï (fosse servant de réserve d'eau). Prélèvement d'un échantillon d'eau au niveau du bras de mer séparant l'île Kaback du continent. Retour vers Conakry.
Mer 29/08/12 Préf de Coyah	<ul style="list-style-type: none"> Trajet vers Coyah. Discussion avec le DPS (Dr Mori Seydou TOURÉ) Visite du CTC de Maneyah. Prélèvement de quelques malades sur papier buvard. Visite d'une famille affectée en juillet dans le district de Kassouniya Visite d'une famille affectée en juillet dans le district de Bentouraya Retour à Conakry
Jeu 30/08/12 Conakry Préf de Dubreka	<ul style="list-style-type: none"> Réunions avec le Dr Sakoba KEITA, le Dr Ousmane YATTARA et le Dr Lamine KOIVOGUI Trajet vers Dubréka. Réunion avec le Dr Abdourahamane BATCHILY (DPS), le Dr CONDÉ (MCM) et M. Mamadou LÉNO « Blo » (responsable du laboratoire de trypanosomiase). Visite du CTC de Dubreka. En l'absence de malades diarrhéiques présents, dépôt de buvards et instructions de prélèvement. Retour à Conakry
Ven 31/08/12 Préf de Dubreka Préf de Boffa Préf de Boké	<ul style="list-style-type: none"> Départ pour la préfecture de Boffa. Interview téléphonique en direct sur RFI (émission Priorité Santé consacrée à l'épidémie de choléra en Guinée et Sierra Leone) Visite du CTC de Tanene (préfecture de Dubréka). Réunion avec le Dr Ismael NABE (chef de centre). Prélèvement d'un échantillon sur buvard. Dépôt de buvards et instructions de prélèvement. Visite du CTC de Koba (préfecture de Boffa). Réunion avec le Dr Mohamed SOUMA (adjoint du chef de centre), le Dr Aboubacar SOUMA (consultant MSF) et le Dr Sedouba TOURÉ (point focal Africhol). Dépôt de buvards et instructions de prélèvements. Récupération de données de pluviométrie à Koba par l'entremise du sous-préfet. Visite du port de pêche de Taboria. Echantillonnage d'un puits situé dans un quartier ayant récemment été frappé par le choléra. Trajet vers Kamsar. Réunion avec le Dr Finda Solange KAMANO (DPS de Kamsar) Nuit à Kamsar
Sam 01/09/12 Préf de Boké	<ul style="list-style-type: none"> Visite du CTC de Kamsar. Réalisation de 2 prélèvements sur buvard. Dépôt de buvards et instructions de prélèvements Réunion de travail avec le Dr Lavilé BILIVOGUI (chargé de la prise en charge des cholériques), M. Apolinaire CAMARA (chef de centre adjoint) et M. Mamadou Bassirou BARRY (biologiste et informaticien indépendant). Visite du port de pêche principal de Kamsar Réunion de travail cartographique avec M. Mamadou Diouhé BARRY (Responsable SIG à BERCA-Baara) Nuit à Kamsar
Dim 02/09/12 Préf de Fria	<ul style="list-style-type: none"> Trajet vers Fria Réunion de travail avec le Dr Kalidou SOUMA (DPS) et le Dr Amadou BARRY (MCM) Visite de quelques quartiers affectés de la Commune Urbaine de Fria Nuit à Fria
Lun 03/09/12 Préf de Fria	<ul style="list-style-type: none"> Rencontre du Préfet de Fria (M. Elhadj Mamadou CONTÉ) Réunion avec M. BAH, météorologue à Fria Visite du CTC de Fria. Réalisation de 2 prélèvements sur buvard. Dépôt de buvard et instructions de prélèvements. Réunion de travail avec le Amadou BARRY (MCM) Retour à Conakry
Mar 04/09/12	<ul style="list-style-type: none"> Réunion du cluster Eau-Hygiène-Assainissement à l'Unicef

Conakry	<ul style="list-style-type: none"> • Réunion à la Direction Nationale de l'Hygiène Publique avec le Dr Abdourahamane SHERIF et M. Bienvenu HOUNDA • Visite au Service National de Météorologie et entretien avec M. Namory DIAKITÉ (Division Météorologie Appliquée) • Réunion de travail au laboratoire de référence de l'INSP • Réunion avec le Dr Sakoba KEITA
Mer 05/09/12 Conakry	<ul style="list-style-type: none"> • Visite à la Société des Eaux de Guinée et entretiens avec M. Abdoulaye BALDÉ (Directeur Production et Réseau), M. Mohamed Lamine CAMARA (assistant du Directeur Production et Réseau), M. Vivier OSCAR (Chef de Service Qualité de l'Eau), et le service SIG • Visite du SNAPE et entretien avec M. Mamadou Malick DEM (Ingénieur Génie Environnement) • Visite au Service National de Météorologie et entretien avec M. Namory DIAKITÉ (Division Météorologie Appliquée) • Réunion de travail au Laboratoire de référence de l'INSP avec Hafia. Entretien avec le Dr Aboubacar SAVANÉ, Directeur du Laboratoire • Réunion à ACF-Espagne avec Beatriz NAVARRO RUBIO (Directrice Pays) et Félicien MIHIRE (Coordinateur technique)
Jeu 06/09/12 Préf de Kindia	<ul style="list-style-type: none"> • Trajet vers Kindia. Réunion de travail avec Mme Léonie Yvonne TOURÉ (MCM et DPS intérimaire) • Visite du CTC et prélèvement d'un buvard • Nuit à Kindia
Ven 07/09/12 Préf de Kindia Préf de Mamou	<ul style="list-style-type: none"> • Trajet pour Kolente (Préfecture de Kindia). Discussions avec M. Amadou Tidiane BARRY (Chef de Centre de Kolente) et le Dr. Mohamed KEITA (Médecin du centre de santé de Kolente et point focal choléra) • Trajet vers Mamou. Réunion de travail avec le Dr. Mamadou Seydou BARRY (MCM)
Sam 08/09/12 Préf de Mamou Préf de Kindia	<ul style="list-style-type: none"> • Réunion de travail avec le Dr. Mariama Kankalabé DIALLO (DPS) et le Dr. Mamadou Seydou BARRY (MCM) • Retour vers Kindia. Visite de quelques quartiers affectés à Kindia. • Retour à Conakry
Dim 09/09/12 Conakry	<ul style="list-style-type: none"> • Travail personnel
Lun 10/09/12 Conakry	<ul style="list-style-type: none"> • Réunion à l'Unicef pour organisation de la mission d'échantillonnage au Sierra Leone • Visite à la Direction Nationale de la Météorologie • Séance de travail au laboratoire de référence de l'INSP • Visite au CTC de Donka, Conakry pour échantillonnage de patients sur buvard.
Mar 11/09/12 Conakry Kambia district (Sierra Leone)	<ul style="list-style-type: none"> • Participation, à l'Unicef, au débriefing de l'ONG Alima, venue évaluer la riposte à l'épidémie de choléra • Départ pour la Sierra Leone avec Yagouba DIALLO (WASH specialist à l'Unicef Guinée). Rencontre de l'équipe Sierra Léonaise (Dr Samuel PRATT et Akysane SESEW) à Pamlap, ville frontière du district de Kambia. • Visite de l'hôpital de Kambia et du CTU de Bermoy Luma. Echantillonnage de patients cholériques sur buvard. • Nuit à Kambia
Mer 12/09/12 Kambia district (Sierra Leone)	<ul style="list-style-type: none"> • Visites pour échantillonnage, de l'hôpital de Kambia ainsi que de plusieurs UTC répartis dans les districts de Kambia (Rokel, Mambolo, Rokupr...) et de Port Loko (Mange...) • Nuit à Kambia
Jeu 13/09/12 Port Loko district (Sierra Leone)	<ul style="list-style-type: none"> • Visite de plusieurs hôpitaux et UTC du district de Port Loko (Mabessaneh in Lunsar, Marampa, Kansundo, Maron, Roktolon, Gbinti, Barmoi, Kagbemtama, Port Loko) • Nuit à Port Loko
Ven 14/09/12 Freetown (Sierra Leone)	<ul style="list-style-type: none"> • Visite de l'hôpital de Port Loko • Trajet vers Freetown • Accueil au siège de l'Unicef-Sierra Leone par Moira FRATTA (Emergency specialist) • Entretien avec le Dr Amara JAMBAI (Director of Disease Prevention and Control, Ministry of Health and Sanitation) • Visites d'échantillonnage aux CTU de 34 Military Hospital et du Connaugh Hospital, en compagnie d'Harold THOMAS (health communication officer, Direction of Disease Prevention and Control) • Nuit à Freetown
Sam 15/09/12 Freetown Conakry	<ul style="list-style-type: none"> • Visite d'échantillonnage au CTU de Macouley Street • Trajet retour vers Conakry, via Pamlap
Dim 16/09/12 Conakry	<ul style="list-style-type: none"> • Travail personnel

Lun 17/09/12 Conakry	<ul style="list-style-type: none"> Travail au laboratoire de l'INSP pour le conditionnement des 50 souches de <i>Vibrio cholerae</i> repiquées. Démarches d'expédition Visite à la Direction Nationale de la Météorologie Séances de travail à la DPLM
Mar 18/09/12 Conakry	<ul style="list-style-type: none"> Visite à la Direction Nationale de la Météorologie Réunion du cluster WASH, avec débriefing de la mission Démarches d'expédition des souches Vol retour pour la France
Mer 19/09/12	<ul style="list-style-type: none"> Arrivée à Marseille

Unicef, Fond des Nations Unies pour l'Enfance
 DPLM, Direction de la Prévention et de la Lutte contre la Maladie
 OMS, Organisation Mondiale de la Santé
 DSVCo, Direction de la Santé de la Ville de Conakry
 INSP, Institution National de la Santé Publique
 PEV, Programme Elargi de Vaccination
 DPS, Directeur Préfectoral de la Santé
 MCM, Médecin chargé de la lutte contre la Maladie
 CTC, centre de traitement du choléra en Guinée
 CTU, cholera treatment unit en Sierra Leone

5.2 Liste non exhaustive des personnes rencontrées

Tableau 4 – Liste et contacts des personnes rencontrées pendant la mission

Organisme	Nom	Fonction	Email
Guinée			
UNICEF-Guinée	M. Alama KEITA	Spécialiste EHA	akeita@unicef.org +224 62 29 65 33 +224 63 36 75 49
	M. Lalit PATRA	Chef EHA	lpatra@unicef.org +224 60 22 87 46 +224 62 35 05 20
	M. Olivier THONET	Coordinateur choléra	othonet@unicef.org
	M. Yagouba DIALLO	Spécialiste EHA	ydiallo@unicef.org
DPLM	Dr Sakoba KEITA	Chef de la DPLM	keita_sakoba@yahoo.fr +224 62 93 13 90
	Dr Yacouba KANDÉ	Vaccination et riposte aux épidémies	kandeyacouba@yahoo.fr +224 62 20 32 87 +224 24 28 42 82
	Dr Ousmane YATTARA	Point focal SAP	ousmanyat@yahoo.fr +224 62 29 66 57
INSP	Dr Lamine KOIVOGUI	Directeur de l'INSP	koivoguil@gmail.com +224 65 72 43 63
	Dr Aboubacar SAVANÉ	Directeur adjoint de l'INSP	Asavane53@yahoo.fr +224 62 39 67 61
	Mamadou Saliou Hafia DIALLO	Technicien de laboratoire en charge du choléra	+224 62 54 87 94
DNHP	Dr Abdourahmane SHERIF	Directeur	abdourasherif@yahoo.fr +224 62 39 64 77
	M. Bienvenu HOUNDJA		bienvenuh@hotmail.fr +224 62 39 71 71
OMS-Guinée	Dr A. Karim DIALLO	Point focal surveillance OMS	dialloak@gn.afro.who.int +224 62 59 70 27
DSVCo	Dr Tata GAKOU	Directrice de la santé de la ville de Conakry	
PEV	M. Lamine BARRY	Epidémiologiste	lamine_barry@msn.com +224 64 52 85 24
Service National de Météorologie	M. Namory DIAKITÉ	Chef de la Division Météorologie Appliquée	nmemediallo@yahoo.fr +224 67 91 83 95 +224 63 57 08 91
SEG	M. Abdoulaye BALDÉ	Directeur Production et Réseau	abaldeseeg@yahoo.fr +224 60 26 22 46 +224 67 33 00 66
	M. Mohamed	Assistant du Directeur	+224 67 22 02 72

	Lamine CAMARA	Production et Réseau	
	M. Vivier OSCAR	Chef de Service Qualité de l'Eau	voscar623@yahoo.fr ; ormv@gmail.fr +224 67 33 00 70 +224 68 74 45 46
SNAPE	M. Mamadou Malick DEM	Ingénieur Génie Environnement, D.G.A. SNAPE	medgc88@yahoo.fr +224 62 23 41 11 +224 60 54 86 73
Observatoire National de la République de Guinée	Didier BAZZO	Conseiller technique	
Ambassade de France	M. Nicolas DEXTREIT	Conseiller de Coopération et d'action culturelle	
MSF-Suisse	Dr Iza CIGLENECKI	Département d'innovation médicale	Iza.CIGLENECKI@geneva.msf.org
	Dr Narcisse VEGA	Coordinateur médical	
ACF	Beatriz NAVARRO RUBIO	Directrice Pays	hom-gn@acf-e.org +224 62 35 02 25 +224 64 46 00 87
	Félicien MIHIRE	Coordinateur technique	coordfs-gn@acf-e.org +224 62 35 02 11
	Jessica DUNOYER	Expert choléra	choleraexpert@sl.missions-acf.org +224 62 35 02 09
Préfecture de Forécariah	Dr DANSOKO	DPS intérimaire	
	Dr Souleymane SYLLA	MCM	
	Dr Fode Sory KOUROUMA	Point focal Africhol à Forécariah	+224 64 28 67 17 +224 68 40 88 82 +224 63 20 62 93
	Dr Aguibou DIALLO	Point focal Africhol à Kaback	
Préfecture de Coyah	Dr Mory Seydou TOURÉ	DPS	+224 67 34 18 03
	Dr Oumar KALLO	Point focal Africhol au CTC de Manéyah	Kallojack82@yahoo.fr +224 64 03 40 07
	Dr Naby Youssouf CONTE	Médecin à l'hôpital de Coyah	+224 64 33 12 20
Préfecture de Dubréka	Dr Abdourahamane BATCHILI	DPS	dpsdubreka2012@hotmail.fr
	Dr Kemo Aly CONDÉ	MCM	kemalico200@yahoo.fr
	Mr Mamadou LENO « Blo »	Chef du laboratoire Trypanosomiase. Substitut du MCM	+224 68 33 98 77 +224 65 96 07 48
	Dr Ismael NABE	Chef de centre de l'hôpital de Tanene	+224 65 36 13 57
Préfecture de Boffa	Dr Aboubacar SOUMAH	Consultant MSF à Koba	Soumahaboubacar82@yahoo.fr
	Dr Sedouba TOURÉ	Point focal Africhol à Koba	
Préfecture de Boké	Dr Finda Solange KAMANO	DPS à Kamsar	
	M. Apolinaire CAMARA	Chef de centre adjoint à Kamsar	
	Dr Lavilé BILIVOGUI	Chargé de la prise en charge des cholériques à Kamsar	+224 64 42 15 84 +224 68 84 84 56
	M. Mamadou Bassirou BARRY	Biologiste et informaticien indépendant	barrybachir@gmail.com +224 64 73 29 97 +224 62 42 10 92
	M. Mamadou Diouhé BARRY	Responsable SIG à BERCA-Baara (Bureau d'Etude de Réalisation et Conseil Agricole)	diouhebarry@gmail.com +224 67 57 15 72
Préfecture de Fria	Dr Amadou BARRY	DPS	
	Dr Kalidou SOUMA	MCM	
Préfecture de Kindia	Mme Léonie	MCM et DPS intérimaire	+224 62 93 13 25

	Yvonne TOURÉ		
	M. Tidiane BARRY	Chef du CS de Kolente	
	Dr. Mohamed KEITA	Médecin du CS de Kolente et point focal choléra	
Préfecture de Mamou	Dr. Mariama Kankalabé DIALLO	DPS	mariamkklbe@yahoo.fr +224 60 39 07 28 +224 67 39 07 28 +224 62 88 85 25
	Dr. Mamadou Seydou BARRY	MCM	barryfetowel@yahoo.fr +224 62 93 13 65 +224 66 23 39 29
Sierra Leone			
UNICEF-Sierra Leone	Dr Samuel PRATT	Health consultant	samuel.pratt13@yahoo.com +232 76853055
	Moirra FRATTA	Emergency specialist	mfratta@unicef.org
Direction of Disease Prevention and Control	Dr Amara JAMBAI	Director	
	M. Harold THOMAS	Health communication officer	haroldthomas2007@yahoo.com +232 76602460
Kambia district	M. Alysane SESEW	Surveillance officer	
UNICEF, Fond des Nations Unies pour l'Enfance EHA, Eau Hygiène Assainissement DPLM, Division Prévention et Lutte contre la Maladie DSVCo, Direction de la Santé de la Ville de Conakry DNHP, Direction Nationale de l'Hygiène Publique INSP, Institut National de Santé Publique SEG, Société des Eaux de Guinée SNAP, Service National de Points d'Eau DPS, Directeur (Direction) Préfectoral(e) de la Santé MCM, Médecin chargé de la lutte contre la Maladie PEV, Programme Elargi de Vaccination ACF, Action Contre la Faim, Mission Guinée CS, centre de santé PS, poste de soin			

5.3 Données recueillies

5.3.1 Cas de choléra notifiés à la DPLM

- Le système de santé guinéen effectue un recensement prospectif des cas suspects de choléra. Dans une zone touchée par une épidémie et conformément à la définition OMS, le choléra est suspecté chez tout malade de 5 ans ou plus présentant une diarrhée aqueuse aiguë, avec ou sans vomissements. Dans la pratique, le système de surveillance recense également des cas suspects de choléra chez des enfants de moins de 5 ans.
- Les nombres totaux de cas suspects et de décès sont remontés hebdomadairement par téléphone à la Direction Prévention et Lutte contre la Maladie (DPLM). Ces données sont alors compilées par le Dr Sakoba KEITA, et diffusées dans un document intitulé « INFOCHOL-Guinée ».
- La remontée de la liste linéaire des malades se fait en revanche avec un retard certain selon les préfectures. Notre passage dans les directions préfectorales de la santé (DPS) a été à plusieurs reprises l'occasion de vérifier la qualité et l'exhaustivité des registres de cas, et de participer à l'actualisation de la base de données nationale. Sa version définitive nous a finalement été transférée par e-mail plusieurs mois après la fin de la mission.
- Ces visites dans les DPS ont également mis en lumière une hétérogénéité importante dans les formats de recueil des données épidémiologiques, source de complications lors de leur regroupement à la DPLM. La diffusion en début d'épidémie d'un fichier Excel® modèle ou d'un masque de saisie sous Epi Info™, logiciel dont la maîtrise semble partagée par toutes les DPS, aurait permis d'éviter ces retards et ces difficultés. Chaque DPS s'est en effet vue dotée par la DPLM d'une clef internet destinée à la remontée des informations épidémiologiques.

5.3.2 Données démographiques

Les données de population à l'échelle sous-prélectorale nous ont été fournies par M. Lamine BARRY, du Programme Elargi de Vaccination (PEV). Leur estimation en 2012 est issue du recensement général de la population de 1996 actualisé par des taux d'accroissement naturels spécifiques. Les données de pyramide des âges de la population projetée en 2012 sont issues du US Census Bureau ²⁶.

5.3.3 Fonds de carte

- Pour l'ensemble de la Guinée, le fond de carte utilisé est le shapefile fourni avec le logiciel HealthMapper développé par l'OMS. Il comporte un découpage géographique en régions, préfectures et sous-préfectures, ainsi que les communes pour Conakry.
- Pour certaines villes et sous-préfectures, des copies de cartes papier et croquis ont été recueillies dans la perspective d'analyses à une échelle plus fine par districts, quartiers et localités.
- Un shapefile comportant quelques districts de la préfecture de Boké et un ensemble de villages de la Guinée, nous a aimablement été confié par le bureau d'étude BERCA-Baara, à Kamsar.
- Enfin, un shapefile de certains villages et des quartiers de Conakry nous a été remis par M. Didier BAZZO, de l'Observatoire National de la République de Guinée.

5.3.4 Données météorologiques

- Un tableur synthétisant la pluviométrie quotidienne mesurée depuis 2000 au niveau des stations météorologiques de Forécariah, Coyah, Conakry, Dubreka, Boffa, Boké, Kindia, Mamou et Kankan nous a été fourni à la fin de notre mission, par la Direction Nationale de la Météorologie et sa Division de Météorologie Appliquée. Le recueil est en revanche très incomplet concernant 2012, et couvre au mieux la période allant janvier à juillet. Des photos des relevés papiers ont également été pratiquées à Koba (préfecture de Boffa) et Fria.
- En complément, la pluviométrie quotidienne estimée par mesure satellite (TMPA-RT 3B42RT) a été obtenue à partir du site internet de la NASA (http://disc2.nascom.nasa.gov/Giovanni/tovas/realtime.3B42RT_daily.2.shtml), et moyennée sur une zone couvrant la Guinée Maritime (9.0N–11.5N ; 15W–12.5W), région la plus touchée par l'épidémie.

5.3.5 Anamnèses épidémiologiques des préfectures, sous-préfectures et localités touchées – enquêtes de terrain

- En complément des données recensées au sein des registres, l'histoire naturelle de l'épidémie 2012 a été reconstituée pour chacune des préfectures (Forecariah, Coyah, Dubreka, Boffa, Boke, Kindia, Mamou) et sous-préfectures visitées. L'anamnèse des cas index (identité, profession, déplacements récents, visites reçues, aliments consommés...) et des cas groupés, ainsi que les conditions d'accès à l'eau, d'assainissement, ainsi que les pratiques d'hygiène dans les localités affectées, jours de marché, etc... ont été recueillies auprès des DPS, des MCM et des personnels des CTC et centres de santé concernés.
- Des visites dans ces quartiers et localités, ainsi que des entretiens avec les familles affectées ont également été réalisés à plusieurs reprises afin d'obtenir des précisions supplémentaires.

5.3.6 Données de fourniture en eau potable dans la ville de Conakry

Plusieurs documents et informations relatives à l'alimentation en eau de boisson ont été collectés auprès de :

²⁶ US Census Bureau, « International Programs, International Data Base ».

- la Société des Eaux de Guinée (SEG) : données de desserte en eau du robinet à Conakry (chronologie des délestages et volume mensuel produits, distribués et consommés par quartier) ; quelques résultats des contrôles de potabilité pratiqués pour le compte de la SEG par le laboratoire du Service National de Contrôle Technique de Qualité, consultés directement dans les locaux de la SEG. Malgré l'engagement de nos interlocuteurs et nos relances répétées, le rapport synthétique des contrôles internes et externes de potabilité réalisés par la SEG ne nous est pas parvenu.
- la Direction Nationale de l'Hygiène Publique (DNHP) : petite étude de potabilité réalisée de manière indépendante en collaboration avec l'ONG Terre des Hommes en août 2012 ; rapport d'évaluation des laboratoires d'analyse de la qualité de l'eau de boisson réalisé en mars 2010 avec le soutien de l'OMS.

5.3.7 Souches cliniques de *Vibrio cholerae*

- Depuis février 2012 et grâce au soutien humain et matériel du réseau Africhol, le laboratoire de référence de l'INSP a collecté, isolé et conservé à +4°C plus de 150 souches cliniques de *Vibrio cholerae* O1 issues de différentes préfectures affectées. Dans le cadre d'un accord quadripartite entre la DPLM, l'INSP, Africhol et l'APHM, 50 souches réparties dans le temps et l'espace ont été repiquées et placées dans des tubes souchiers, avant d'être acheminés à Marseille à température ambiante, pour la réalisation d'analyses génétiques.
- Par ailleurs, un échantillonnage complémentaire de selles de patients cholériques a été réalisé sur papier buvard de type Whatman FTA® Elute (Whatman Inc., Florham Park, USA) (Photo 1), au sein de CTC guinéens et sierra léonais, et avec l'autorisation des autorités sanitaires des 2 pays. Ces buvards, largement utilisés en paludologie²⁷, offrent l'avantage d'une conservation à température ambiante, d'un risque de contamination virtuellement nul puisque les échantillons sont séchés et que le buvard est traité avec un réactif lysant les cellules, et d'une extraction facilitée de l'ADN. La mise en culture ultérieure de l'échantillon n'est en revanche pas possible. Cette collecte de selles sur buvard répondait à un double objectif :
 - (1) Evaluer la faisabilité d'un simple échantillonnage sur buvard sec, directement au lit du malade, destiné à la réalisation d'études génétiques du *Vibrio cholerae*.
 - (2) Elargir l'échantillonnage en Guinée, et disposer d'un échantillonnage en Sierra Leone.



Photo 1

Un total de 41 buvards ont été collectés (Tableau 5).

²⁷ Stanislas Rebaudet et al., « Genetic structure of *Plasmodium falciparum* and elimination of malaria, Comoros archipelago », *Emerging Infectious Diseases* 16, n° 11 (novembre 2010): 1686 - 1694, doi:10.3201/eid1611.100694.

Tableau 5 – Bilan des buvards prélevés

Site de prélèvement	Nombre de buvards
Guinée	
CTC de Donka	6
CTC de Manéah	6
CTC de Tanene (Dubreka)	2
CTC de Koba	5
CTC de Kamsar	2
CTC de Fria	2
CTC de Kindia	1
Sierra Leone	
Barmoi Luma CTU	1
Kambia Hospital	4
Port Loko Hospital	1
34 Military Hospital	2
Connaught Hospital	5
Macouley Street CTU	4
Total	41

5.3.8 Echantillons environnementaux : eau et poissons

Afin d'explorer l'hypothèse d'un réservoir environnemental de *Vibrio cholerae* O1 toxigène en période épidémique, et profitant de l'expertise bactériologique du laboratoire de référence de l'INSP, une recherche de vibrios a été réalisée sur 2 types d'échantillons environnementaux :

- (1) Un pool d'intestins de 5 poissons d'espèces différentes (« sori », « lédifice », « konkoué », « makré » et « goukoumi » en langue soussou), achetés sur la plage du village de Dabonkhore, sur l'île de Kaback, le 28/8/2012 (Photo 2).
- (2) De l'eau prélevée au niveau de bras de mer, d'estuaires ou de puits :
 - Ile de Kaback (le 28/8/2012) :
 - Bras de mer entre l'île et le port de Sangbon, situé sur la terre ferme (Photo 3)
 - Fosse à eau (« Tigie ») dans le village de pêcheur de Dabonkhore (Photo 4)
 - Puit dans le village de Taboriah, sous-préfecture de Koba, préfecture de Boffa, situé à proximité du débarcadère de pêche (le 31/8/2012)
 - Puit à Kindia, situé à proximité de la rivière Takhou dans le quartier Mankepa 2 (le 7/9/2012)
 - Sierra Leone, Kambia district (le 12/9/2012) :
 - Puit dans le village de Rokel, Mambolo chiefdom (non protégé et hébergeant un poisson chat nourri par la population)
 - Estuaire de la Great Scarcies (ou Kolenté) River, à Mambolo village



Photo 2



Photo 3



Photo 4

5.4 Analyses épidémiologiques

5.4.1 Epidémiologie descriptive globale

- Représentation de la courbe épidémique des cas suspects de choléra et de la pluviométrie à l'échelle nationale en 2012
- Cartographie des cas sur Quantum GIS™ (QGIS™) v1.7.3 (<http://www.qgis.org/>).

5.4.2 Epidémiologie analytique, recherche de facteurs de risque

- Analyse de l'anamnèse des cas index et des cas groupés
- Analyse des populations à risques dans certaines préfectures
- Analyse de l'effet de la pluie
- Étude descriptive du l'accès à l'eau à Conakry

5.5 Géotypage et épidémiologie moléculaire

5.5.1 Expédition des souches bactériennes

- Expédition à Marseille des 50 souches cliniques de *V. cholerae* O1 et des 3 souches environnementales isolées au laboratoire de l'INSP (2 *V. cholerae* non-O1 et 1 *V. parahaemolyticus*, cf §2.6 et 3.4), dans des tubes souchiers à température ambiante

5.5.2 Remise en culture des souches de vibrios et extraction de l'ADN

- Remise en culture des souches au Laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Laveran, à Marseille :
 - Vortexage des tubes de transport, prélèvement de solution de glycérol, et ensemencement de milieu non sélectif de type TSA avec incubation de 24h à 37°C.
 - Réaction d'oxydase. Agglutination anti-O1.

- Pour les souches environnementales, confirmation complémentaire de l'identification réalisée en Guinée par galerie API
- Identification complémentaire de toutes les souches cultivées par spectrométrie de masse (MALDI-TOF, type Bruker Microflex™) au Laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'Hôpital de la Timone (APHM)
- Extraction de l'ADN :
 - A partir des cultures
 - Et pour les souches n'ayant pas poussé, à partir glycérol contenu dans le tube soucier
 - Extraction de l'ADN des buvards selon les recommandations du fabricant (Whatman Inc., Florham Par, USA)

5.5.3 Analyse MLVA

- Réalisées sur les ADN extraits des souches cliniques cultivées en Guinée, sur buvards prélevés en Guinée et en Sierra Leone, ainsi que sur les souches environnementales de vibrios
- Génotypage de 6 microsatellites, issus de la littérature et de travaux antérieurs du laboratoire (Tableau 6) :
 - PCR simples pour chaque microsatellite, sur thermocycleur de type Biometra T1 96®, avec une température d'hybridation de 58°C.
 - puis électrophorèse en microcapillaire sur séquenceur de type ABI Prism® 3130 XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems) pour détermination de leur polymorphisme de taille

Tableau 6 – Caractéristiques des 6 microsatellites génotypés et des amorces employées

Nom	Motif répété	Chr.*	Position\$	Nom des amorces	Séquence des amorces (5'→3')
VC1	AACAGA	1	137106	VC1-fw	CGGATACTCAAACGCAGGAT
				VC1-rv	CTTTCGGTCGGTTTCTCTTG
VC4	TGCTGT	2	187759	VC4-fw	TGTTTGAGAGCTCGCCTCTT
				VC4-rv	TCATCAAGATGCACGACACA
VC5	GATAATCCA	1	1915539	VC5-fw	AGTGGGCACAGAGTGTCAAA
				VC5-rv	AATTGGCCGCTAACTGAGTG
VC9	GACCCTA	1	467111	VC9-fw	CGTTAGCATCGAACTGCTG
				VC9-rv	AGAAAAAATCGCCTGCTTG
VCLAV6	ACCAGA	2	303939	VCLAV6-fw	GCCTCCTCAGAACTTGAGAATC
				VCLAV6-rv	CCGATGAACTCTCTGAACTGG
VCLAV8	TTGTCTGA	1	532253	VCLAV8-fw	CTCGCTTAAGTTGCCTTACCC
				VCLAV8-rv	GCGAACCAGACGTACTTTTCAG

* Chr. : chromosome

\$ sur la souche de référence El Tor N16961

- Comparaisons des profils génotypiques générés pour recherche du caractère mono- ou polyclonal de l'épidémie
- En cas d'épidémie polyclonale, étude de la distribution temporelle et spatiale des génotypes

5.5.4 Séquençage total d'une des souches isolées

- Séquençage total par technologie Paired End sur séquenceur Roche 454 Sequencing GS LFX®.

- Comparaison des séquences avec celles des souches de références disponibles dans les bases du NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/), pour caractérisation du gène *ctxB* de la toxine cholérique et des autres gènes principaux de pathogénicité

5.6 Recherche de vibrios environnementaux

5.6.1 Conditionnement, transport et culture des échantillons d'eau et d'intestins de poissons

- (1) Le pool d'intestins poissons échantillonnés à Kaback le 28/8/2012 a immédiatement été placé dans un flacon d'eau peptonée alcaline (EPA1), et conservé à température ambiante jusqu'à son arrivée au laboratoire de l'INSP le 30/8/2012. Cet EPA1 a alors d'une part été repiqué sur milieu sélectif TCBS, d'autre part été ré-enrichi dans un EPA2 lui-même repiqué sur TCBS. Toutes les incubations ont été réalisées à 37°C.
- (2) Concernant l'eau prélevée au niveau du bras de mer à Kaback, de l'estuaire de la rivière Kolenté et des puits, ne disposant d'aucun matériel de filtration, de petits tampons de Moore²⁸ ont été confectionnés au moyen d'une compresse stérile roulée, attachée à une ficelle en coton, et stérilisée par autoclave dans un emballage en papier. La méthode originale consiste à suspendre les tampons dans l'eau à échantillonner pendant une durée de l'ordre de 24h afin que ceux-ci se chargent de vibrios libres (planctoniques) ou fixés (benthiques) à la surface des particules en suspension dans l'eau. Étant mobiles et ne pouvant ainsi laisser les tampons en place le temps nécessaire, l'eau a été échantillonnée dans des bouteilles en plastique de 1,5L et le tampon de Moore placé dans ces bouteilles pendant 1 à 3 jours, c'est à dire jusqu'à leur mise à l'enrichissement dans de l'eau peptonée au laboratoire. Après 6h à 37°C, une partie du bouillon était repiqué, et l'autre ensemencé sur gélose TCBS placée à 37°C.

5.6.2 Identification des souches de vibrio obtenues

- Réalisation du test de l'oxydase sur les colonies évocatrices de vibrios, à partir d'un repiquage sur milieu de culture non sélectif
- Identification sur galerie API des souches de vibrios obtenues
- Test d'agglutination à l'anti-O1 et à l'anti-O139 pour les souches identifiées *Vibrio cholerae*
- Souchage et conservation à +4°C en attendant le transport des souches à Marseille pour confirmation

5.6.3 Confirmation d'identification à Marseille

- A Marseille, remise en culture des souches environnementales de vibrios sur milieu non sélectif
- Nouvelle identification biochimique sur galerie API et complément d'identification par spectrométrie de masse
- Sérotypage des souches à l'anti-O1

²⁸ T J Barrett et al., « Use of Moore swabs for isolating *Vibrio cholerae* from sewage », *Journal of clinical microbiology* 11, n° 4 (avril 1980): 385 - 388.