



INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE BIOMÉDICALE

RAPPORT PRÉLIMINAIRE

DES ÉCHANTILLONS DE CAS SUSPECTS DE LA ZONE DE SANTÉ DE PANZI – DSP KWANGO

DÉCEMBRE 2024

Table des matières

I. Introduction.....	1
II. Flux du travail dès la réception à l'analyse des échantillons.....	2
II.1. Réception des échantillons.....	2
II.2. Gestion des échantillons.....	2
II.3. Analyses de laboratoire.....	5
III. Résultats.....	6
IV. Conclusion.....	6
V. Hypothèses.....	6
Annexes.....	7

I. Introduction

La Zone de Santé de PANZI, localisée dans la Division Provinciale de Santé de Kwango (figure 1) a notifié une série de cas de maladie fébrile depuis fin octobre ayant entraîné des décès communautaires vers mi-Novembre 2024. A ce jour, 416 cas suspects dont 31 décès ont été reportés (Sitrep Panzi, 003). La tranche d'âge la plus touchée reste celle des enfants de moins de 5 ans.

La persistance du phénomène ainsi que la survenue des décès a conduit le personnel local ainsi que la DPS à effectuer des prélèvements qui ont été acheminés à l'Institut National de Recherche Biomédicale (INRB) pour des investigations approfondies afin d'identifier l'implication d'une cause infectieuse.

En date du 07 Décembre 2024, un lot de 12 échantillons ont été reçus vers 22h à la Biobanque de l'INRB.

Par la suite, l'INRB a conduit une investigation multidisciplinaire faite d'équipes de différents départements et via lesquels d'autres échantillons ont été obtenus.



Figure 1: Carte de la RDC représentant la Zone de santé de Panzi

II. Flux du travail dès la réception à l'analyse des échantillons

II. 1. Réception des échantillons

1^{er} lot d'échantillons : Les échantillons sont arrivés à la biobanque vers 22h le 07 Décembre 2024 à température ambiante dans une boîte isotherme (Figure 1). Pour la conservation, l'équipe a ravitaillé la boîte isotherme des accumulateurs de froids. Il n'y avait pas de documents accompagnant ces échantillons.

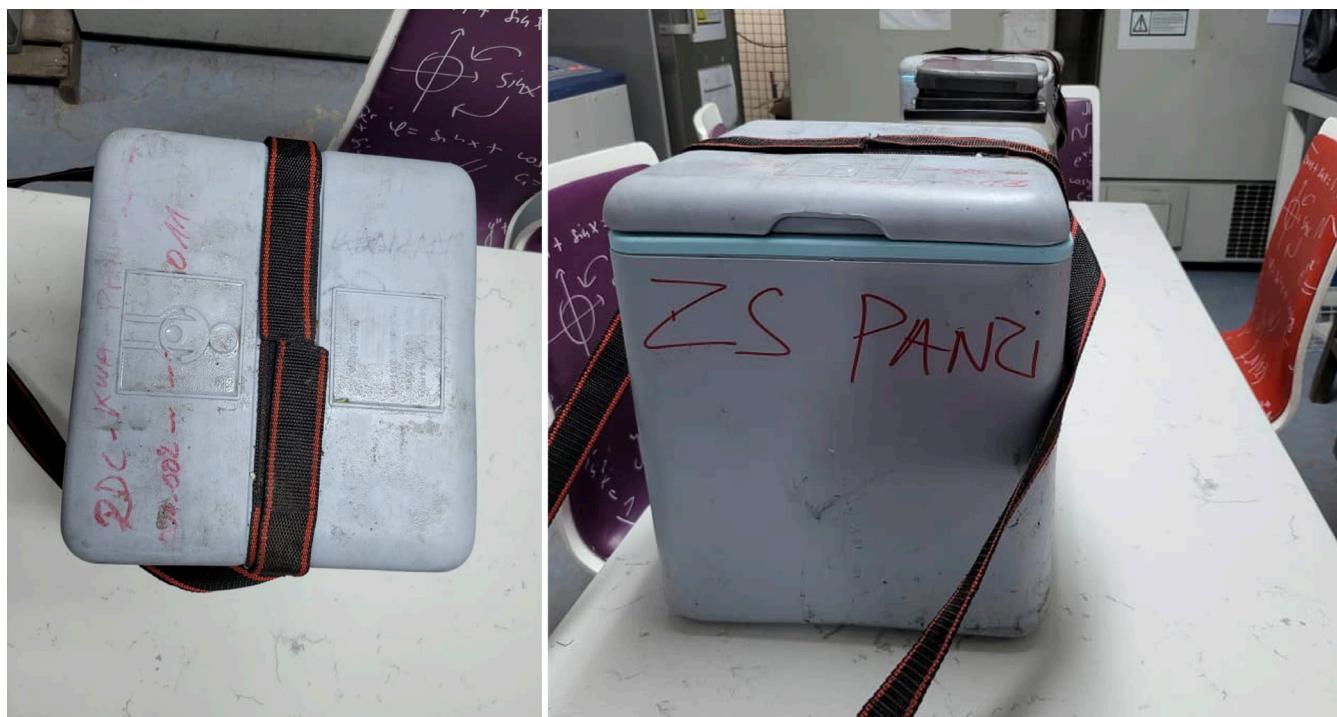


Figure 2: Boîte isotherme avec échantillons en provenance de Panzi

Avant le déballage:

- o Identité du porteur :
- o Date et temps de réception : Samedi 07/12/2024 vers 22h00
- o Inventaire théorique : a été fait le Dimanche 08/12/2014 vers 07h du matin.

II. 2. Gestion des échantillons

Le déballage a été fait en respectant les normes de biosécurité et biosureté le Dimanche 08/12/2024. L'inventaire physique des échantillons a été fait le même dimanche 08 décembre 2024 au laboratoire :

- o Nombre d'échantillons reçus : 12 échantillons dont 11 avec information épidémiologique et 1 sans information épidémiologique.
- o Type d'échantillons : sang total (5) et sérum (7), tous reçus à la température ambiante. Tous les échantillons du sang total et serum ont été prélevés dans les tubes non appropriés pour le prélèvement, la conservation ainsi que le transport (Figure 2). Ces échantillons étaient de mauvaise qualité et hémolysés.

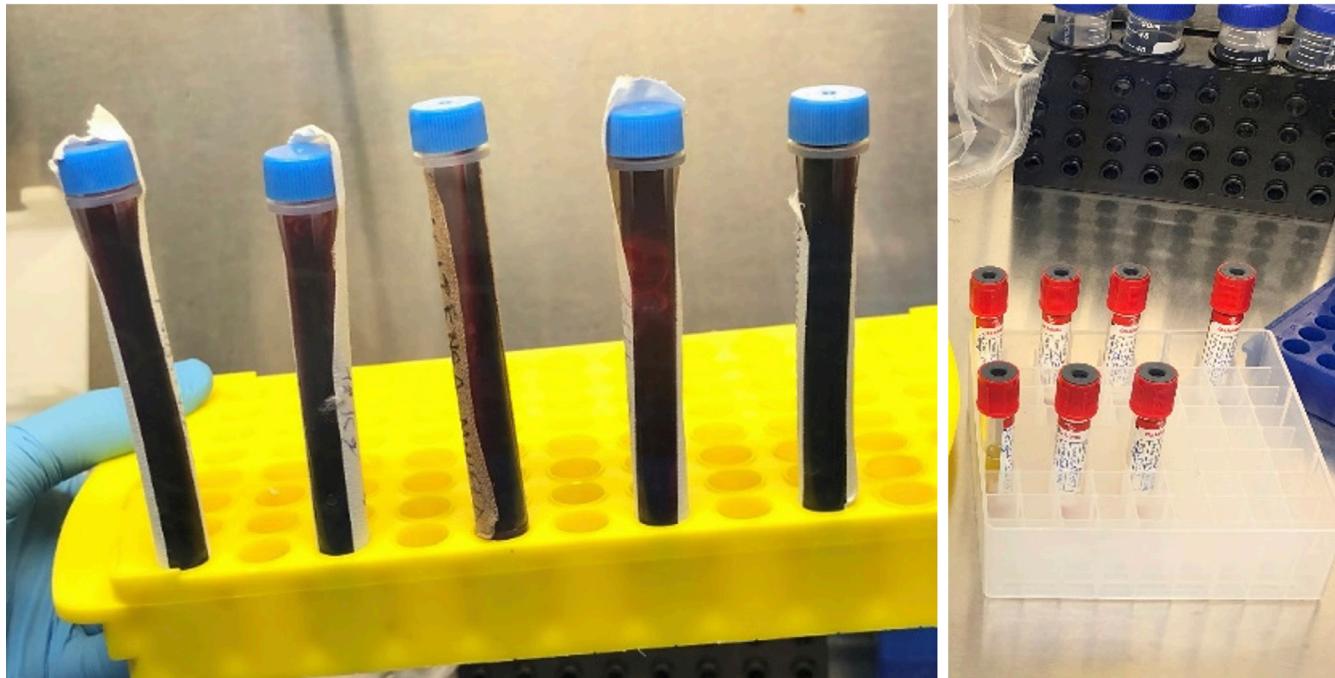


Figure 3: Photo des échantillons du sang total et serum

Le tube contenant l'échantillon d'un patient a été déversé dans l'emballage qui le contenait et était donc insuffisant (Figure 4).



Figure 4: Échantillon déversé dans l'emballage

Les échantillons correspondent au nombre des patients mais pas des fiches.

Les non-conformités signalées sur le formulaire. La majorité d'échantillons reçus étaient hémolysés (Figure 5).

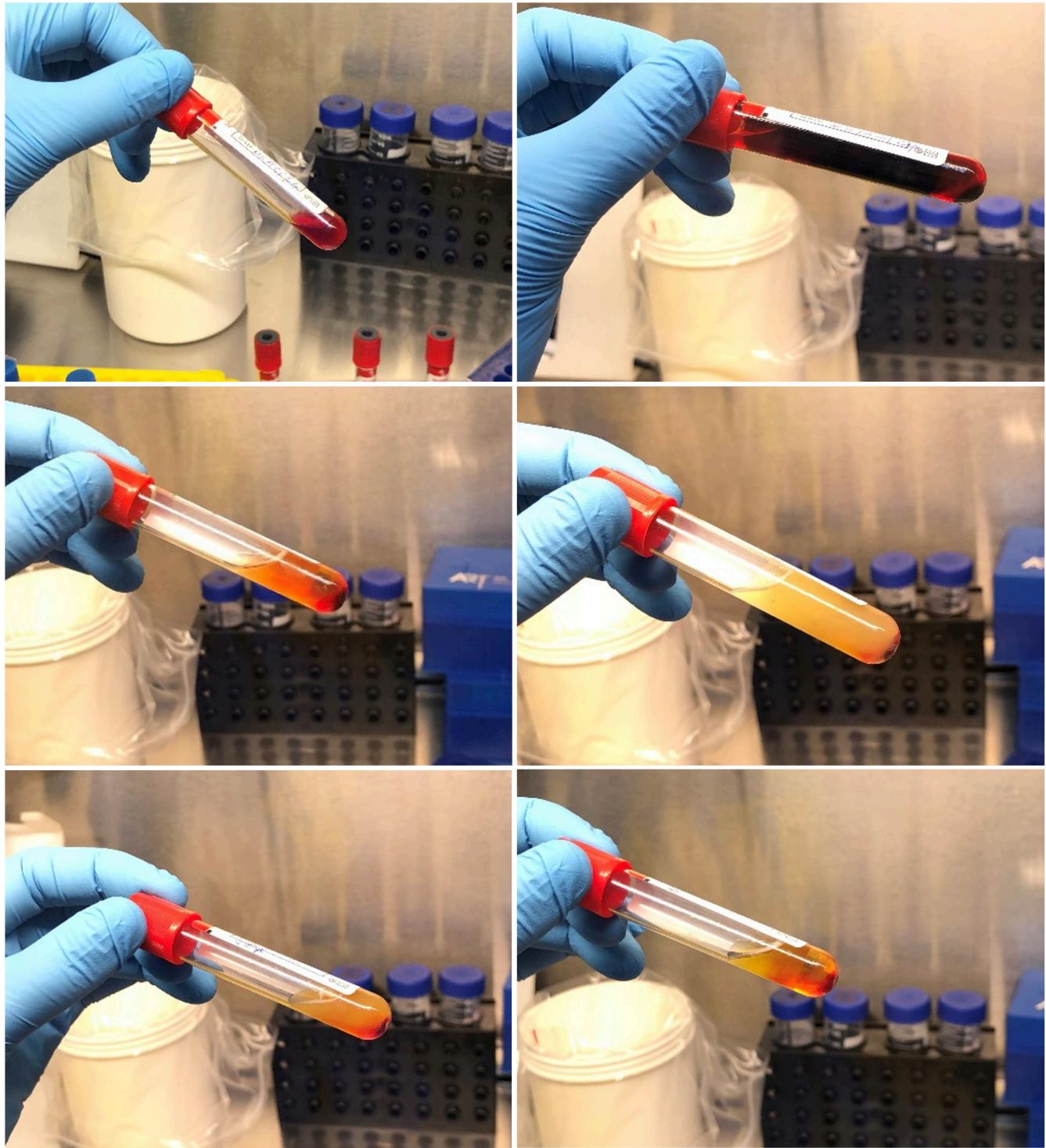


Figure 5: Échantillons hémolysés

2^{ème} lot d'échantillons : réceptionné à l'INRB en date du 13 Décembre 2024 vers 20h. Nous avons reçu un total de 57 échantillons dont 14 écouvillons oropharyngés, 26 échantillons de sérum, 12 échantillons de sang total, 2 échantillons d'urines et 3 échantillons de selles.

3^{ème} lot d'échantillons : réceptionné à l'INRB en date du 15 Décembre 2024 vers 14h30. Nous avons reçu 361 échantillons (prélevés chez 90 patients) dont 79 échantillons pour hémoculture, 20 échantillons de sang total, 66 échantillons de sérum, 91 écouvillons oropharyngés, 89 écouvillons nasaux, 7 échantillons d'urines, 7 échantillons de selles et 2 échantillons de lait maternel.

NB : Les échantillons du 2 ème et 3 ème lot ont été reçus en très bonne condition avec des quantité suffisante, en respectant la chaîne de froid de Panzi jusque Kinshasa. A ce jour, nous avons reçu un total de 430 échantillons sur les 3 lots expédiés à Kinshasa (voir tableau ci-dessous pour les détails sur le type et nombre d'échantillons reçus).

Tableau 1: Nombre et type d'échantillons reçus jusqu'à la date du 16 Décembre 2024

Type d'échantillons	1 ^{er} lot	2 ^{ème} lot	3 ^{ème} lot	Total
Sang total	5	12	20	37
Sérum	7	26	66	99
Ecouvillons oropharyngés	0	14	91	105
Ecouvillons nasaux	0	0	89	89
Selles	0	3	7	10
Urides	0	2	7	9
Lait maternel	0	0	2	2
Flacons Hémoculture	0	0	79	79

II. 3. Analyses de laboratoire

1. Extraction

L'extraction a été faite en utilisant le kit Qiagen pour total viral RNA ainsi que le kit RADI DNA/RNA en respectant les recommandations du protocole.

2. PCR Multiplex à l'aide du Biofire FirmArray

Nous avons lancé les premières analyses en utilisant la PCR multiplex de la plateforme Biofire. Les échantillons ont été analysés en utilisant le panel Global Fever RUO V1.1 permettant de détecter les bactéries, virus et parasites indiqués dans le tableau 1 en annexe.

3. PCR Multiplex en temps-réel à l'aide du QuantStudio7

Nous avons utilisé les cartes Taqman Array Card (CDC Uganda) conçues par le Département VSBP de CDC. Ces cartes permettent de détecter les pathogènes indiqués dans le tableau 2 en annexe.

4. Séquençage à haut -débit

Les analyses de séquençage ont été réalisé en utilisant plusieurs protocoles :

- Protocole TWIST Comprehensive Viral Research Panel (ciblant plus de 3000 virus connus)
- Viral Surveillance Panel (ciblant plus de 200 virus essentiellement les virus respiratoires comme SARS-CoV-2, influenza, mais aussi les arbovirus et hépatites)
- Protocole SISPA (métagénomique en ciblant de manière aléatoire différents organismes connus ou inconnus).

III. Résultats

- PCR multiplex avec Biofire Global Fever Panel : 17 échantillons positifs au *Plasmodium falciparum* sur les 26 échantillons analysés;
- PCR multiplex avec QuantStudio7 : 4 échantillons positifs au *Plasmodium falciparum*, 1 échantillon positif au *Salmonella spp* et 1 échantillon positif à la dengue et *Plasmodium falciparum* sur les 26 échantillons analysés;
- Test rapide pour le diagnostic de la malaria réalisé sur terrain : 55 échantillons positifs au *Plasmodium falciparum* sur 88 échantillons analysés.
- Analyses virologiques, bactériologiques et le séquençage à haut débit : procédure en cours.

IV. Conclusion

En attendant les résultats des autres analyses, les résultats préliminaires montrent qu'il s'agit probablement d'une épidémie sur un terrain de paludisme associé probablement à une autre infection bactérienne et/ou virale que nous continuons à investiguer.

V. Hypothèses

Au vu du taux élevé de malnutrition dans cette population affectée, observation faite par les équipes de la zone de santé, de la division provinciale de la santé et les investigateurs du niveau central, nous suggérons deux hypothèses :

- 1^{ère} hypothèse : Une épidémie de malaria sur terrain de malnutrition probablement associée à une infection virale et/ou bactérienne ;
- 2^{ème} hypothèse : Une épidémie due à une infection virale et/ou bactérienne sur terrain de malaria et de malnutrition.

Nous poursuivons les analyses pour déterminer s'il y a des virus et/ou des bactéries pathogènes impliqués dans cette épidémie.

Fait à Kinshasa, le 16 Décembre 2024

Pour l'INRB, les équipes du laboratoire de virologie, bactériologie, parasitologie et génomique des pathogènes.

ANNEXES

Tableau 1 : Liste des pathogènes détectés par le Biofire Global Fever Panel RUO V.1.1

Type	Pathogènes
Bactéries	Bacillus anthracis
	Francisella tularensis
	Leptospira spp.
	Salmonella enterica serovar Typhi
	Salmonella enterica serovar Paratyphi A
Virus	Chikungunya virus
	Crimean-Congo hemorrhagic fever virus
	Dengue virus (serotypes 1, 2, 3 and 4)
	Ebola virus spp. (Bundibugyo, Reston, Sudan, Taï Forest, Zaire)
	Lassa virus
	Marburg virus
	West Nile virus
	Yellow fever virus
	Zika virus
Protozoaires	Leishmania spp.
	Plasmodium spp.
	Plasmodium falciparum
	Plasmodium vivax/ovale

Tableau 2 : Liste des pathogènes détectés par QuantStudio 7 TAC card CDC

Pathogènes détectés
Pan-Dengue, Chikungunya, Zika
Yellow Fever, West Nile, Enterococcus facium
Listeria monocytogenes, Treponema pallidum, S. enterica typhi
Streptococcus suis, Nipah virus
Plasmodium vivax, Plasmodium falciparum
Salmonella spp, E coli, Shigella spp
Salmonella enterica paratyphi A, Orientia tsutsugamushi (scrub typhus)
Rift Valley Fever, CCHF
Lassa pan