



RAPPORT ANNUEL D'ACTIVITE 2007

**Laboratoire de Parasitologie-Mycologie
CHU de Montpellier
163, rue Auguste Broussonet
34090 MONTPELLIER**

**Responsable :
Professeur Jean-Pierre DEDET**

1. INTRODUCTION

1.1. Rappel des missions et objectifs :

Le Centre National de Référence des *Leishmania* (CNRL) a été créé en mars 1998 (arrêté du 17 mars 1998). Il a été renouvelé le 26 avril 2002, puis le 6 janvier 2006, pour la période 2006-2009.

Depuis sa création, il développe les différentes missions imparties aux Centres nationaux de référence : missions d'expertise, de surveillance, d'alerte et de conseil. Dans ce cadre, il effectue depuis sa création :

- la collecte et la conservation de souches de *Leishmania* et leur identification isoenzymatique et moléculaire,
- la surveillance des différentes formes de leishmanioses humaines, avec un registre des cas autochtones et importés en France métropolitaine. La surveillance de la leishmaniose cutanée en Guyane française est réalisée par le laboratoire collaborateur du Centre hospitalier général de Cayenne (Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Pr B. Carne),
- l'alerte et le conseil.

De nouvelles missions ont été ajoutées au CNRL lors de son renouvellement en janvier 2006 :

- la collaboration avec le Service de Santé des Armées, pour la surveillance de la leishmaniose cutanée en Guyane,
- la surveillance de la leishmaniose canine, en collaboration avec l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon (Pr. G. Bourdoiseau),
- le conseil thérapeutique téléphonique, en collaboration avec le Centre de Santé de l'Institut Pasteur (Dr P. Buffet).

1.2. Résumé des activités de l'année :

Durant l'année 2007, les principales missions du CNRL ont été remplies, et les recommandations du Comité scientifique des CNR ont été prises en compte.

Sur 209 souches reçues au CNRL, 155 ont été identifiées par électrophorèse des isoenzymes ; 97 identifications moléculaires ont également été réalisées, dont 14 provenant de prélèvements n'ayant pas poussé en culture. Au typage de routine des souches reçues, s'est ajoutée la prise en compte de problématiques supplémentaires : étude d'un groupe taxonomique particulier (*L. tropica*) par un typage multilocus (MLST) et analyse des caryotypes en champ pulsé pour le suivi des souches isolées au cours des récurrences de LV chez les sujets co-infectés par le VIH. Enfin, une autre activité a été introduite en 2007, avec la surveillance de la sensibilité des souches à l'amphotéricine B.

Si le nombre de souches entrées dans la collection a été stable (209 exemplaires en 2007), le nombre de souches distribuées a été extrêmement élevé (n = 458). Cette forte augmentation, liée à une accentuation des activités de recherche et des collaborations, témoigne de la vitalité de la collection et de son intérêt scientifique.

La surveillance des leishmanioses humaines a été poursuivie tant en France métropolitaine qu'en Guyane (216 fiches de déclaration de cas reçues, soit 44 de plus qu'en 2006). En France métropolitaine, ont été déclarés en 2007 :

- 22 cas de leishmaniose viscérale (LV), 2 cas de leishmaniose cutanée (LC) et 2 cas de leishmaniose muqueuse autochtones,

- 7 cas de LV et 36 cas de LC importés.

Un total de 144 cas de LC ont été contractés en Guyane, chiffre en progression par rapport à celui de l'année précédente.

Au terme de 10 années de surveillance des leishmanioses en France métropolitaine par le CNRL, nous avons réalisé un bilan de cette activité et évalué son exhaustivité. Ainsi, nous avons mené d'une part une analyse rétrospective des données obtenues durant 10 ans, en particulier les catégories de services et les départements déclarants, mais nous avons également comparé les résultats des déclarations de cas faites au CNRL en 2005 avec la base de données nationale du PMSI qui recueille tous les séjours hospitaliers publics ou privés. En 2007, le CNRL a poursuivi sa participation au Réseau international de surveillance de la co-infection *Leishmania*/VIH coordonné par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS).

La surveillance de la leishmaniose canine menée en collaboration avec le Laboratoire de Parasitologie et maladies parasitaires de l'Ecole Nationale vétérinaire (ENV) de Lyon (Pr G. Bourdoiseau) a été orienté principalement vers une cartographie basée sur les informations d'une base de données rétrospective que nous avons constituée. Une enquête par questionnaire auprès des vétérinaires praticiens a été entamée en 2007 et se poursuit en 2008.

Au plan de l'information, nous avons réalisé une rétro-information des personnes ayant déclaré des cas de leishmanioses. Le site internet du laboratoire a fait l'objet d'une mise à jour. Sept stagiaires ont été reçus en 2007.

Le conseil thérapeutique téléphonique créé en 2006 a poursuivi son activité (19 appels).

Les projets de recherche en lien avec l'activité du CNRL se sont diversifiés et ont favorisé une forte activité de publications (13 publications dans des revues internationales avec comité de lecture réalisées en 2007). L'activité du CNRL a généré deux communications orales dans des congrès nationaux, 3 communications orales, dont deux invitées, dans des congrès internationaux ; une conférence sur invitation a été donnée

. Pour ses activités d'expertise et de conseil, le laboratoire est Centre Collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé pour les leishmanioses.

L'effort de la démarche qualité a particulièrement porté durant l'année écoulée sur le traitement des souches depuis l'arrivée jusqu'à la cryoconservation, l'envoi et le typage. L'objectif est toujours l'obtention d'une certification dans les trois ans à venir (norme ISO 9001).

Le CNRL a reçu de l'Institut de Veille sanitaire une subvention annuelle s'élevant à 38.000 euros pour l'année 2007.

1. 3. Equipe :

a. Personnel :

Les divers personnels médicaux et non médicaux du Laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Montpellier et de l'Université Montpellier 1 qui sont, pour partie de leur temps, impliqués dans les activités et le fonctionnement du CNRL sont listés ci-dessous.

Leurs tâches respectives au sein du CNRL figurent sur l'organigramme fonctionnel présenté sur la figure 1.

Personnel médical : L'ensemble des personnels médicaux impliqués correspond à 1,7 ETP.

- **DEDET Jean-Pierre**, Professeur des Universités-Praticien hospitalier (UM1/CHU) : 0,2 ETP. J.P. Dedet est le responsable du CNR des *Leishmania*.
- **BASTIEN Patrick**, Professeur des Universités-Praticien hospitalier (UM1/CHU) : 0,1 ETP. P. Bastien est responsable adjoint du CNR des *Leishmania*.
- **PRATLONG Francine**, Maître de conférence des Universités-Praticien hospitalier (UM1/CHU) : 0,4 ETP. F. Pratlong est la Curatrice de la collection de *Leishmania*.
- **DEREURE Jacques**, Maître de conférence des Universités, Médecin attaché consultant (UM1/CHU) : 0,1 ETP
- **BASSET Didier**, Praticien hospitalier (CHU) : 0,1 ETP
- **RAVEL Christophe**, Maître de conférence des Universités- Praticien hospitalier (UM1/CHU) : 0,6 ETP
- **LACHAUD Laurence**, Maître de conférence des Universités (UM1) : 0,2 ETP

Personnel technique : L'ensemble des personnels techniques impliqués correspond à 4,7 ETP.

- **BALARD Yves**, assistant-ingénieur (Université Montpellier 1) : 0,6 ETP
- **BRESSON Guillaume**, technicien (CHU de Montpellier) : 0,4 ETP
- **BOUADI Fathia**, adjoint technique (CHU de Montpellier) : 0,4 ETP
- **LAMI Patrick**, adjoint technique (Université Montpellier 1) : 1 ETP
- **LEFEBVRE Michèle**, technicienne (Université Montpellier 1) : 1 ETP
- **SERRES Ghislaine**, technicienne (CHU de Montpellier) : 0,8 ETP
- **TALIGLIANI Loïc**, adjoint technique, Université Montpellier 1) : 0,5 ETP

Secrétariat :

- **LAMI Joelle**, secrétaire médicale (CHU de Montpellier) : 0,2 ETP

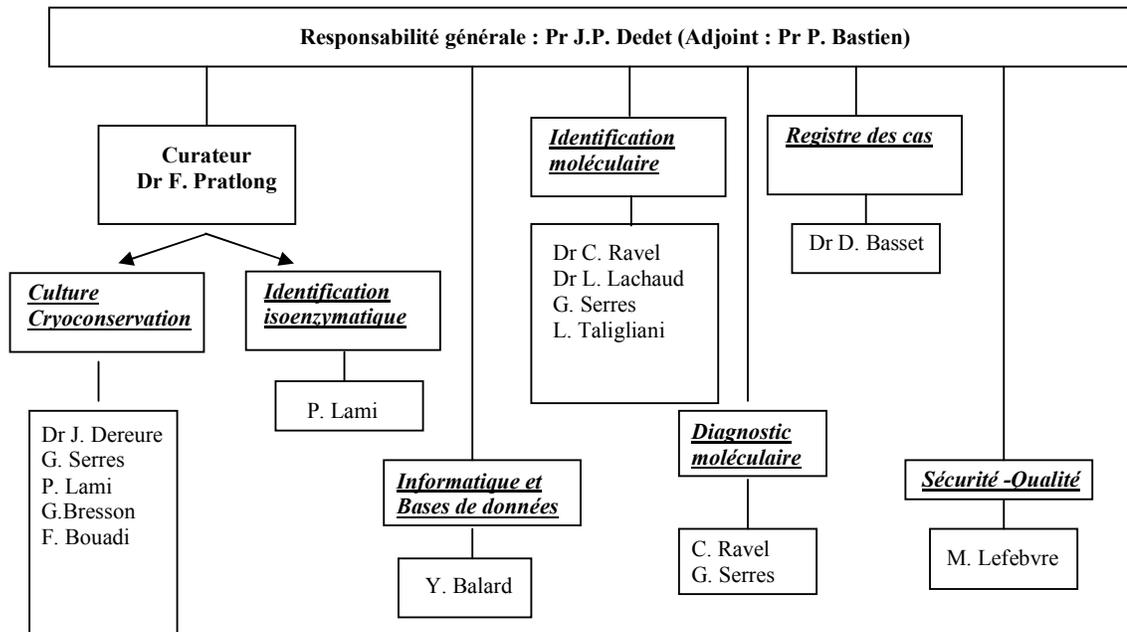
b. Démarche qualité

L'ensemble des activités développées au CNRL sont réalisées selon le référentiel « Guide des bonnes pratiques d'exécution des analyses » (GBEA, arrêté du 26/11/1999), référentiel qualité adopté depuis plusieurs années pour le laboratoire du CHU. Procédures et modes opératoires sont appliqués aux activités d'isolement, de culture et d'identification. Le CNRL bénéficie de l'Agent Chargé de la Mise en Œuvre de l'Hygiène et de la Sécurité (ACMO) de l'Unité de recherche (FRE 1093, CNRS-Université Montpellier 1) et du laboratoire universitaire (Mme M. Lefebvre).

Depuis 2006, une démarche qualité a été entreprise en vue d'une accréditation ISO 9001 version 2000 pour la collection de *Leishmania* du CNRL. Le programme d'informatisation de l'ensemble des opérations, depuis la réception jusqu'au stockage des souches, est en fonction (Programme Modul Bio). La réglementation actuelle sur les transports des matières infectieuses est appliquée tant pour les souches envoyées au CNRL que pour celles expédiées par le CNRL. L'envoi des souches au CNRL a été codifié en 2006, un transporteur agréé sélectionné par le CNRL qui prend en charge les frais de transport.

En 2007, l'effort a porté essentiellement sur la démarche qualité à partir de l'arrivée d'une souche de *Leishmania* au CNRL jusqu'à sa cryoconservation, son envoi et son typage.

Figure 1.- Organigramme du Centre National de Référence des *Leishmania*



Les processus ont été définis et cartographiés et le système documentaire exigé par le référentiel mis en place.

Pour le processus activité (réception et cryoconservation des souches incluant typage et expédition) 7 procédures et 27 modes opératoires ont été rédigés ou actualisés dont 5 relatifs à l'utilisation de la base informatique « Modul Bio ».

Le processus de support à la réalisation contient une procédure de gestion des équipements défectueux et deux modes opératoires dont un relatif à la fonctionnalité des appareils thermostatiques et aux actions correctives à réaliser en cas de dysfonctionnement.

Le processus de surveillance et amélioration contient une procédure relative aux actions correctives. Les processus de management de la qualité contiennent deux procédures relatives à la maîtrise des documents et à leur codification. Enfin, le processus client contient une procédure relative aux exigences client. Cinq formulaires ont été créés pour améliorer l'organisation et avoir les renseignements demandés par la norme ISO 9001 : 2000.

Des logigrammes ont été réalisés pour les activités incluant les actions correctives à réaliser en cas de non conformité lorsqu'il s'agit d'un contrôle. Les documents « copies » ont été diffusés dans les différents secteurs du CNR et une liste de diffusion a été réalisée.

L'ensemble de ces actions ont été accompagnées de réunions explicatives avec le personnel du CNRL, pour aider à impulser la dynamique qualité.

Dans le domaine de la qualité des activités de surveillance, nous avons réalisé en 2007 deux études d'évaluation, dont l'une portant sur l'analyse rétrospective des déclarations de cas entre 1998 et 2007, et l'autre visant à évaluer l'exhaustivité du système de déclarations passives de cas en 2005 par comparaison avec la base de données PMSI pour la même année. employé. Ces études sont présentées ci-dessous (section 3.1. paragraphes c et d). Dans les deux cas, des actions correctives ont été mises en place.

1. 4. Locaux et équipements :

Le CNRL est localisé au Laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Montpellier, installé sur 1500 m². Il comporte les équipements courants d'un laboratoire hospitalo-universitaire de diagnostic et de recherche, et en particulier un plateau technique performant, en adéquation avec les missions de CNR :

- une unité de culture, avec une enceinte confinée de niveau P3, équipée de 4 enceintes de sécurité, une chambre chaude pour la croissance des cultures de *Leishmania* (24-26° C). En effet, parmi les espèces de *Leishmania*, celles responsables de LV et de LCM (*L. donovani*, *L. infantum* et *L. braziliensis*) ont été classées en L3. Toutes les autres espèces sont classées en L2.
- une unité de cryoconservation avec un local spécifique aux normes de sécurité pour la manipulation de l'azote liquide et contenant 28 containers de 40 litres (GT 40), 4 containers de 140 litres (Arpège 140) et un container de répartition (TP100). Un contrat de livraison hebdomadaire d'azote liquide existe avec Air Liquide Santé (livraison hebdomadaire de 350 litres). La mise à niveau des containers est assurée chaque semaine par un technicien (P. Lami).
- des équipements courants généraux : un autoclave, diverses étuves, centrifugeuses, balances, pH-mètres, microscopes, appareils à électrophorèse en champ pulsé, appareils d'amplification génique (PCR), sécheurs de gels, bain sec, équipement polaroid, plaque UV, cuves à électrophorèse et électrofocalisation, générateurs divers, systèmes de refroidissement des cuves, congélateurs divers (- 20° et - 80° C).

Concernant les moyens logistiques, le CNRL bénéficie des infrastructures, fournitures de fluides et logistique mises à la disposition du laboratoire de Parasitologie-Mycologie par le CHU de Montpellier et l'Université Montpellier I.

2. ACTIVITES D'EXPERTISE :

2.1 Capacités techniques

L'identification des *Leishmania* est réalisée dans notre laboratoire depuis 1979 selon la technique de référence d'identification biochimique par électrophorèse des isoenzymes. A cette technique s'ajoutent l'identification moléculaire par séquençage d'un gène de la RNA polymérase II. Un typage multilocus (MLST) est en cours de développement, qui porte sur l'analyse simultanée de 7 loci génomiques indépendants. D'autre part le typage par analyse des caryotypes (électrophorèse en champ pulsé) est réalisé ponctuellement sur des souches isolées de patients immunodéprimés (infection VIH) et avec une infection leishmanienne au long cours.

a. Technique de référence : Identification iso-enzymatique

L'analyse isoenzymatique des souches est réalisée par électrophorèse en gel épais d'amidon utilisant les 15 systèmes enzymatiques suivants (Rioux et coll., *Ann. Parasitol. hum. Comp.*, 1990, 65 : 111-115) : malate déshydrogénase, MDH, EC 1.1.1.37 ; enzyme malique, ME, EC 1.1.1.40 ; isocitrate déshydrogénase, ICD, EC 1.1.1.42 ; 6-phosphogluconate déshydrogénase, PGD, EC 1.1.1.44 ; glucose-6-phosphate déshydrogénase, G6PD, EC 1.1.1.49 ; glutamate déshydrogénase, GLUD, EC 1.4.1.3 ; NADH diaphorase, DIA, EC 1.6.2.2 ; purine nucléoside phosphorylase, NP 1, EC 2.4.2.1 ; purine nucléoside phosphorylase, NP 2, EC 2.4.2.* ; glutamate-oxaloacétate transaminase, GOT 1, EC 2.6.1.1 ; glutamate-oxaloacétate transaminase, GOT 2, EC 2.6.1.1 ; phosphoglucomutase, PGM, EC 5.4.2.2 ; fumarate hydratase, FH, EC 4.2.1.2 ; mannose phosphate isomérase, MPI, EC 5.3.1.8 ; glucose phosphate isomérase, GPI, EC 5.3.1.9.

La technique d'isoélectrofocalisation plus résolutive est utilisée en complément pour certaines enzymes (Piarroux et coll., *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1994, 86 : 475-478).

b. Autres techniques utilisées

- Identification moléculaire

L'identification moléculaire est réalisée depuis fin 1998 sur tout prélèvement ou culture provenant de leishmanioses tégumentaires. Elle est basée sur le séquençage du locus RNA Pol II. L'identification moléculaire permet notamment la différenciation rapide des espèces *L. guyanensis* et *L. braziliensis* à partir de lésions de patients contaminés en Amérique du Sud, en particulier en Guyane française. Elle est appliquée non seulement sur les souches en culture, mais également sur les prélèvements, en particulier biopsiques.

Cette technique a été validée par une étude comparative entre les deux techniques isoenzymatique et moléculaire réalisée sur une période de deux ans. (voir rapport annuel 2006).

- Typage par analyse des caryotypes en champ pulsé :

Les caryotypes moléculaires des *Leishmania* présentent une grande variabilité. Cette caractéristique permet d'envisager une différenciation entre souches génétiquement très proches. Cette méthode s'applique principalement à l'étude de souches isolées de façon répétitives de patients co-infectés par *Leishmania* et VIH et permet de distinguer les rechutes des réinfections.

c. Techniques en développement

- Approche MLST

Le développement d'une approche d'identification et de typage de type MLST est en cours. Au cours de l'année 2007, 10 loci génomiques ont été validés pour différentes espèces de *Leishmania* de l'Ancien Monde. Ce travail s'intègre dans le cadre d'une collaboration avec le « plateau technique séquençage » des CNR de l'Institut Pasteur (Responsable S. Brisse). Ce typage est actuellement étendu aux espèces du Nouveau Monde sur quatre loci génomiques sur les dix étudiés.

- Identification des repas sanguins de Phlébotomes par technique moléculaire

Cette étude, première tentative d'utilisation d'une technique moléculaire pour l'identification des repas sanguins pris par les phlébotomes a l'avantage d'être couplée à l'identification moléculaire spécifique du phlébotome.

Ce travail, objet d'une collaboration entre le CNRL, le Laboratoire de Parasitologie-Mycologie de la Faculté de Pharmacie de Monastir, Tunisie, (thèse soutenue en 2007, direction Pr H. Babba) et le Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg (Pr B. Pesson) a fait l'objet d'une publication :

Haouas N., Pesson B., Boudabous R., Dedet J.P., Babba H., Ravel C. Development of a new molecular tool for the identification of *Leishmania* reservoir hosts by blood meal analysis in the insect vectors. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2007, 77: 1054-1059

- Etude in vitro de la sensibilité des souches de *Leishmania* à l'Amphotéricine B

Nous disposons depuis fin 2007 d'un système *in vitro* qui permet de tester la sensibilité des souches de *Leishmania* à l'amphotéricine B (AmB) en routine. Brièvement, l'EC₅₀ de l'AmB pour les promastigotes de *L. infantum* cultivés en milieu SDM-promastigote est déterminée en mesurant la densité optique. De plus, une autre méthode utilisant les amastigotes intracellulaires infectant une lignée monocyttaire humaine a aussi été évaluée mais n'a pas été retenue pour le travail de routine compte tenu de sa complexité, de son coût et de sa moindre sensibilité par rapport au système précédent.

d. Collections de souches

- Collection de souches de *Leishmania* (Cryobanque)

Débutée en 1971, elle s'est régulièrement enrichie. Depuis une dizaine d'années, le nombre de nouvelles souches annuellement cryoconservées dans la collection est d'environ 200 (figure 2). Elle comporte actuellement 5.600 souches provenant de 47 pays, sur 5 continents. Les souches proviennent principalement de cas humains de leishmanioses (69,5 %), mais également de chiens (18,3 %), de rongeurs (4,6 %), d'autres mammifères (0,4 %), et de phlébotomes (7,2 %). Du point de vue géographique, les souches proviennent

principalement d'Europe (45,5 %) et d'Afrique (30,7 %), mais également d'Asie (12,1 %) et d'Amérique (11,7 %).

Toutes les souches sont conservées en azote liquide. Le process des échantillons biologiques et des souches, depuis leur arrivée jusqu'à leur stockage est géré informatiquement grâce à un programme spécifiquement développé pour la collection (base de données sécurisée sous Oracle).

La collection est référencée sur le World Data Centre for Microorganisms de la World Federation for Culture Collections (depuis le 08/04/2005, n° 879) et sur le site internet des Centres de Ressources Biologiques-France : www.crb-france.org (depuis le 27/07/2005).

Nous avons présenté en 2006 une lettre d'intention pour participer au réseau européen « European Research Infrastructure for Biobanking and Biomolecular Resources ». Nous participons depuis à ce réseau, ainsi qu'au Réseau français des Biobanques.

Conditions de mise à disposition de la collection :

Un catalogue de 443 souches disponibles dans la collection est présenté sur le site internet du laboratoire : www.parasitologie.univ-montp1.fr/cryobanque.htm

Les souches sont envoyées aux personnes qui les sollicitent après signature d'un accord de Transfert de Matériel biologique (MTA) destiné à fixer la responsabilité des receveurs et les modalités d'utilisation par le centre receveur des souches dans le respect des réglementations et de la propriété intellectuelle.

- Collection d'ADN de *Leishmania*

Depuis 2003, une collection d'ADN a été constituée. Elle renferme des ADN obtenus à partir de cas humains (environ 1500) ou à partir de souches de culture (environ 500). Tous les ADN sont cryoconservés à - 30°C.

e. Techniques de diagnostic utilisées

- **Diagnostic moléculaire par PCR** basé sur l'amplification du locus de l'ARN ribosomal.

- Diagnostic immunologique :

Le diagnostic immunologique de la leishmaniose viscérale est basé sur l'utilisation de deux techniques de dépistage (immunofluorescence indirecte et ELISA). La technique de western blot est utilisée comme technique de confirmation.

2.2. Activités d'expertises en 2007

a. Diagnostic moléculaire

Durant l'année 2007, 211 échantillons pour diagnostic moléculaire de leishmanioses ont été analysés, dont 41 étaient positifs.

b. Souches reçues

En 2007, 209 souches de *Leishmania* ont été isolées ou reçues, dont 78 d'hôpitaux et centres de soins français, 13 de centres de soins ou de recherche à l'étranger. Enfin, 118 souches faisaient partie de projets de recherche. Le détail de l'origine des souches figure sur

Tableau I.- Origine des 209 souches de *Leishmania* traitées par le Centre National de Référence des *Leishmania* en 2007

<u>France</u> <u>(78 souches)</u>		<u>Centres à l'étranger</u> <u>(13 souches)</u>	
<u>Hôpitaux et laboratoires</u> <u>français</u>		ALLEMAGNE Ludwig Maximilians University, <i>Munich</i>	2
CHU Besançon	1	PAYS BAS Royal Tropical Institut, <i>Amsterdam</i>	3
CHU Colombes	1	USA Walter Reed Army Institut of Research, <i>Silver Spring</i>	8
CHU Dijon	1		
CHU Marseille	4	Projets de recherche <u>(118 souches)</u>	
CHU Montpellier	9	ALGERIE	13
CHU Nice	14	Alger	
CHU Paris		ALGERIE	16
• Cochin	4	Faculté de Médecine <i>Annaba</i>	
• St Louis	4	GRECE	63
• Pitié Salpêtrière	8	Faculty of Medicine, University, Heraklion, <i>Crete</i>	
CHU Rennes	2	ISRAEL	12
CHU Rouen	2	Department of Parasitology, <i>Jerusalem</i>	
CHU Fort de France	3	MAROC	12
Institut Pasteur (Paris)	1	Institut National d'Hygiène, <i>Rabat</i>	
Ecole Vétérinaire de Lyon	10	PORTUGAL	2
		Instituto de Higiene e Medicine Tropical, <i>Lisbonne</i>	
<u>Hôpitaux d'instruction des</u> <u>armées</u>			
HIA Laveran (Marseille)	7		
HIA Legouest (Metz)	5		
HIA St Anne (Toulon)	1		
HIA Robert Picque (Bordeaux)	1		

Liste des correspondants du CNRL qui ont envoyé des souches en 2007 :

M. ANTONIOU (Grèce), S. BOTERO (Suède), BUFFET (Institut Pasteur, Paris), CAMPINO (Portugal), A. CHAN (USA), CHENE (ENV Lyon), A.DATRY-DANIS (CHU Pitié-Salpêtrière), J. DEREURE (CHU Montpellier), N. DESBOIS (CHU Martinique), F. FAROULT (CHU Marseille), FLEISHMAN (Allemagne), G.GALEAZZI (CH Colombes), G.GARGALA (CHU Rouen), J.P GANGNEUX (CHU Rennes), E. GARNOTEL (HIA Laveran, Marseille), LE BUISSON (Paris), A.LEGUERN (Institut Pasteur, Paris), R.MANSOURI (Université Annaba, Algérie), MARTINAUD (HIA Toulon), P. MARTY (CHU Nice), M.MORILLON (HIA Laveran Marseille), A OUDHIA (ENV Algérie), R.PIARROUX (CHU Besançon), J. PUYARDY (HIA Legouest Metz), M.RHAJAOUI (Maroc), C. SARFATY (CHU St Louis Paris), SCHNUR (Israël), SOULLIE (HIA Bordeaux), W. WAN DER MEIDE (Amsterdam, Pays Bas).

Tableau II.- Origine géographique des 209 souches de *Leishmania* isolées ou reçues en 2007

<u>AFRIQUE(58)</u>		<u>ASIE (14)</u>	
Algérie	30	Iran	1
Burkina Faso	2	Israël	5
Mali	1	Ouzbékistan	8
Maroc	15		
Sénégal	2		
Soudan	1		
Tunisie	7		
<u>EUROPE (99)</u>		<u>AMERIQUE (22)</u>	
Chypre	20	Costa Rica	3
Espagne	1	Guyane française	17
France	26	Martinique	1
Grèce	44	Suriname	1
Italie	8		
Portugal	2		
		<u>DIVERS (16)</u>	
		Origine géographique inconnue	16
		6souches dont le pays n'est pas défini	
		8 souches non renseignées du Walter reed.	

Figure 2.

Nombre de souches stockées annuellement de 1975 à 2007

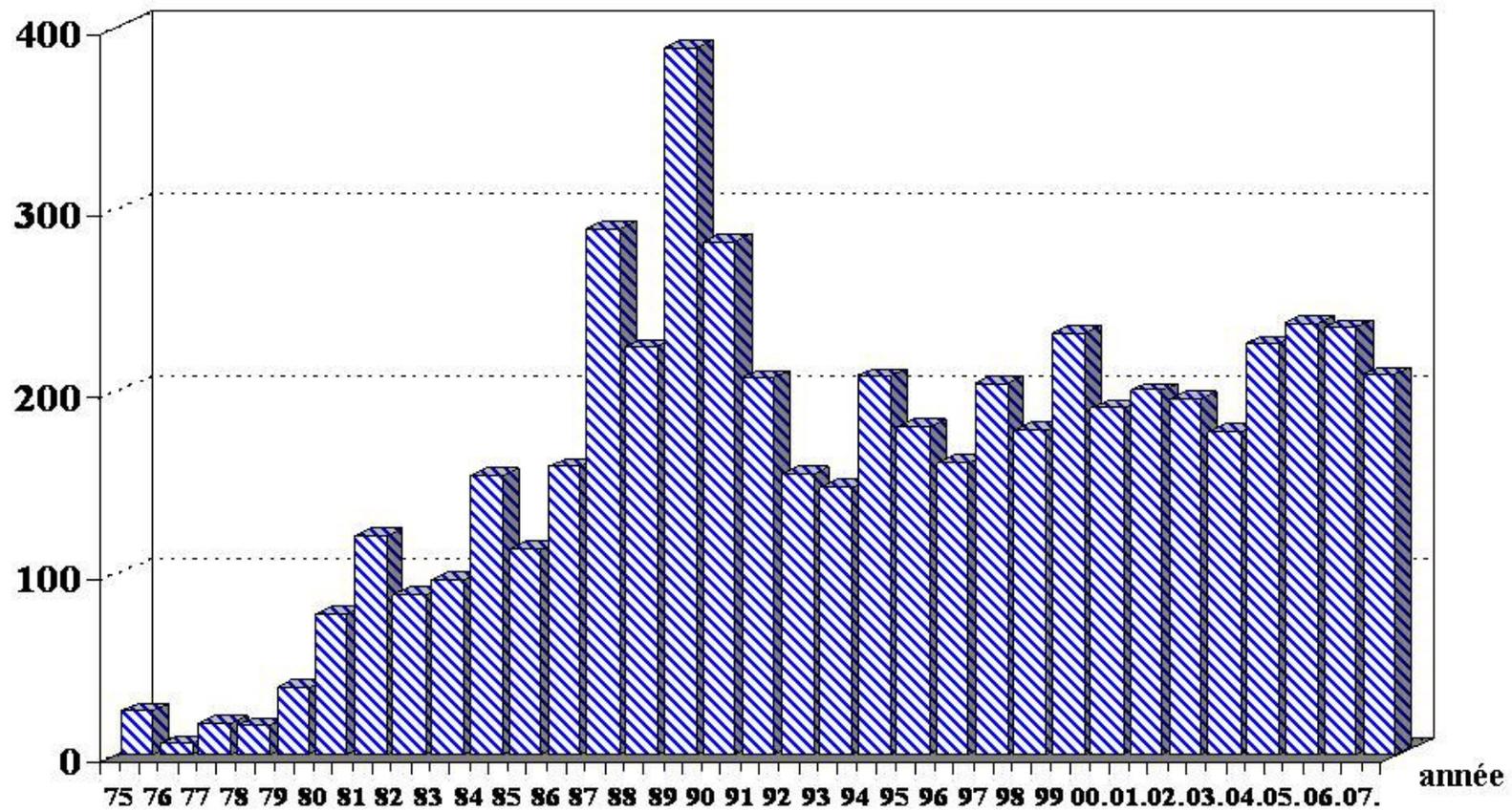


Tableau III .- Identification iso-enzymatique des 155 souches traitées en 2007

ESPECE	ZYMODEME	NB	ESPECE	ZYMODEME	NB
ANCIEN MONDE			NOUVEAU MONDE		
<i>L.infantum</i>	MON-1	105	<i>L.amazonensis</i>	MON-41	1
	MON-24	6	<i>L.guyanensis</i>	MON-45	2
	MON-33	1	<i>L.sp Martinique</i>	MON-229	1
	MON-98	10			
<i>L.donovani</i>	MON-37	3			
<i>L.major</i>	MON-25	10			
<i>L.tropica</i>	MON-26	2			
	MON-57	1			
	MON-102	12			
<i>L.killicki</i>	MON-8	1			
TOTAL ANCIEN MONDE :		151	TOTAL NOUVEAU MONDE :		4

le tableau I. En 2007 : sur les 209 souches isolées ou reçues, 11 (5,3 %) ont été obtenues de patients présentant une co-infection LV /Sida.

L'origine géographique des souches par pays d'isolement figure sur le tableau II.

Les fluctuations annuelles des nombres de souches traitées au laboratoire sont assez faibles. Depuis plus d'une dizaine d'années, les nombres annuels de souches se situent aux environs de 200 par an. Le chiffre de 2007 est légèrement inférieur à ceux des trois années précédentes, tout en demeurant nettement au dessus de 200 (figure 2).

Toutes les souches ont été congelées en azote liquide et sont conservées dans la Cryobanque de *Leishmania*.

c. Identification isoenzymatique

Sur les 209 souches isolées ou reçues, 155 ont été identifiées en 2007 par électrophorèse des isoenzymes. Le détail des identifications figure sur le tableau III.

Au total 8 espèces de *Leishmania* ont été identifiées. Parmi les souches de l'Ancien Monde prédominantes dans notre échantillon (97,4 %), c'est essentiellement *L. infantum* (122 souches) qui domine, espèce présente dans le sud de la France et dans le Bassin méditerranéen. Les autres espèces de l'Ancien Monde identifiées en 2007 sont représentées par *L. tropica* (15 souches) et *L. major* (10 souches). Très peu de souches du Nouveau Monde ont été identifiées par isoenzymes en 2007.

L'accord scientifique signé en 2006 avec le Walter Reed Army Institute for Research de Washington (USA) pour l'identification isoenzymatique de souches s'est poursuivi en 2007.

d. Identification moléculaire

En 2007, 97 identifications ont été réalisées selon cette méthode (83 en 2006), à partir de souches ou d'ADN, mais également à partir de divers types de prélèvements (biopsies, produits de grattage, sang, moelle osseuse).

L'identification moléculaire a permis l'identification de 30 souches de *L. infantum*, 1 souche de *L. donovani*, 23 souches de *L. major*, 10 souches de *L. tropica*, 2 souches de *L. killicki*, 23 souches de *L. guyanensis*, 2 souches de *L. panamensis*, 3 souches de *L. braziliensis*, 1 souches de *L. amazonensis* et 2 souches de *L. sp* (dont le statut taxonomique sera précisé ultérieurement).

A noter que le typage moléculaire a permis le typage de 14 prélèvements ou cultures négatives ou contaminées.

e. Identifications moléculaires effectuées à Cayenne sur les souches locales

Le laboratoire collaborateur du CNRL à Cayenne (Laboratoire hospitalo-universitaire de Parasitologie-Mycologie et EA 3593) dirigé par le Pr B. Carme effectue l'identification des souches locales, isolées à partir de patients, par une technique de PCR-RFLP mise au point en 2005 (Rotureau et coll., *J. Clin. Microbiol.*, 2006, 44 : 459-467) et améliorée en 2007 pour permettre une différenciation fiable en routine entre les espèces *L. guyanensis* et *L. braziliensis*.

Sur 80 souches identifiées en 2007, 69 appartenaient à l'espèce *L. guyanensis*, 6 à l'espèce *L. braziliensis*, 4 à *L. amazonensis* et 1 à l'espèce *L. lainsoni*.

Une vigilance particulière dans l'identification des souches est accordée à l'espèce *L. infantum*, à la suite du diagnostic de deux cas de leishmaniose canine à Cayenne, survenus sur

un chien importé et un chien vivant avec le cas importé (Rotureau et coll., *J. Clin. Microbiol.*, 2006, 44 : 1120-1122).

f. Suivi des souches de patients co-infectés par LV et VHI par analyse des caryotypes en champ pulsé

Dix patients co-infectés par le VIH ont été suivis sur une période moyenne de 36 mois (3 à 137 mois). Un total de 31 rechutes cliniques de LV a été observé. Seize souches provenant de rechutes ont été comparées aux 10 souches isolées lors du primo-diagnostic par analyse des « pulsetypes » obtenus en champ pulsé. Tous les isolats appartenaient à l'espèce *L. infantum*. Les « pulsetypes » des 10 souches isolées lors du primo-diagnostic étaient différents. La caractérisation et la comparaison des souches lors des épisodes secondaires de LV ont montré que chez sept patients il s'agissait de réactivation de parasites ayant échappé au traitement par amphotéricine B et restés latents dans l'organisme, alors que pour trois patients il s'agissait d'une infection par une nouvelle souche.

g. Sensibilité in vitro des souches de *Leishmania* à l'amphotéricine B

Deux méthodes ont été utilisées pour vérifier la sensibilité in vitro des souches de *L. infantum* à l'amphotéricine B. La première partie du travail a consisté à standardiser la méthode. Nous avons tout d'abord établi des valeurs de sensibilité pour une souche de référence pour laquelle nous avons également sélectionné un clone résistant à l'amphotéricine B. Le EC₅₀ pour l'amphotéricine B de la souche de référence *L. infantum* a été trouvé de 0,4 µg/ml avec le système promastigote. Le mutant résistant in vitro était 10 fois plus résistant que la souche sauvage. Un essai avec la forme intracellulaire sur une lignée de macrophages U937 a également été réalisé. La valeur du EC₅₀ était environ 4 fois plus élevée pour le mutant par rapport à la souche sauvage.

Aucune des différentes souches des 10 patients étudiés en champ pulsé (*cf. supra*) ne présentait d'EC₅₀ compatible avec une résistance à l'amphotéricine B.

h. Souches de *Leishmania* issues de la collection du CNRL distribuées :

Quatre cent cinquante huit souches de *Leishmania* ont été expédiées en 2007 à la demande de divers laboratoires et institutions en France et à l'étranger, dont la liste figure ci-dessous :

➤ En France, 393 souches ont été fournies :

- **81** souches à l' UMR 2724 CNRS-IRD-UMI, **Centre IRD de Montpellier**
- **290** souches pour le Projet de recherche MLST du **CNRL (Montpellier)**
- **19** souches au Laboratoire de Parasitologie, **CHU de Nîmes**
- **1** souche au Laboratoire de Parasitologie, **CHU de Grenoble**
- **2** souches à l'INSERM U399, **Faculté de médecine Marseille**

➤ A l'étranger, 65 souches ont été fournies :

- **9** souches à l' Institute of Tropical Medicine, **Anvers, Belgique**
- **6** souches au Centro de Dermatologia Federico Lleras Acosta, Laboratorio de Dermatologia Tropical, **Bogota, Colombie**
- **11** souches au Servicio de Parasitologia, Instituto de Salud CarlosIII, **Madrid, Espagne**

- 8 souches à l'Institut Pasteur Hellénique, **Athènes, Grèce**
- 12 souches à l'Unité des Leishmanioses, Institut d'Hygiène et Médecine tropicale, **Lisbonne, Portugal**
- 19 souches : au Walter Reed Army Institute for Research, **Washington, USA**

i. Evolution des tendances

L'année 2007 a été particulièrement active, puisque au typage de routine des souches reçues, s'est ajoutée la prise en compte de problématiques supplémentaires. Le typage des souches de *Leishmania* en routine est resté centré sur l'identification isoenzymatique, technique de référence (155 souches), et le typage moléculaire (97 isolats). Pour l'étude d'un groupe taxonomique particulier (*L. tropica*), les techniques de routine ont été complétées par un typage multilocus (MLST). Le problème spécifique des évolutions de longue durée de la LV du sujet infecté par le VIH a été abordé par l'analyse des caryotypes en champ pulsé. Enfin, une autre activité a été introduite en 2007, avec la surveillance de la sensibilité des souches à l'amphotéricine B.

La collection de souches s'est enrichie de 209 exemplaires en 2007, un nombre d'entrées assez stable depuis une dizaine d'années. Mais, ce qui caractérise la collection en 2007, c'est le nombre extrêmement élevé de souches distribuées (n = 458), par rapport à l'année précédente (n = 103). Cette forte augmentation est liée à la fois à une accentuation des collaborations avec des centres de recherche à l'étranger, mais aussi au développement de projets de recherche de notre propre laboratoire et d'équipes de recherche voisines à Montpellier. Cette tendance témoigne de la vitalité de la collection et de son grand intérêt scientifique du fait de la grande diversité des espèces présentes et de leur origine géographique.

3. ACTIVITES DE SURVEILLANCE

Depuis 1998, les **leishmanioses humaines** font l'objet d'un recensement annuel de la part du CNRL, d'après les déclarations volontaires de cas autochtones ou importés qui lui sont envoyées. Les déclarations sont faites par les établissements publics ou privés de santé, voire par des praticiens libéraux. Ce recensement a porté d'abord sur la France métropolitaine, puis a été étendu à la Guyane, en 2003.

La surveillance de la **leishmaniose canine** a été entreprise en 2006, en collaboration avec le Laboratoire de Parasitologie et maladies parasitaires de l'Ecole Nationale vétérinaire (ENV) de Lyon (Pr G. Bourdoiseau). Le chien étant le réservoir de *Leishmania infantum*, espèce présente dans le sud de la France et responsable de toutes les formes cliniques autochtones, la surveillance de la leishmaniose canine a un intérêt certain par son implication dans la santé humaine. Cette surveillance permet une collaboration étroite avec les vétérinaires.

3.1. Surveillance des leishmanioses humaines

Durant l'année 2007, 93 déclarations nous sont parvenues directement au CNRL, de structures de santé de France métropolitaine (87 déclarations) ou de départements d'outre-mer (6 déclarations) et 123 ont été fournies par le laboratoire collaborateur du CNRL à Cayenne. Ces résultats seront détaillés plus bas.

Durant l'année sous revue, nous avons également analysé les catégories de services et les départements déclarants et réalisé une étude d'exhaustivité sur l'année 2005, par comparaison des résultats des déclarations de cas faites au CNRL avec la base de données nationale du PMSI (*cf. infra*).

a. Réseau de partenaires

La liste des services ayant déclaré au CNRL des cas de leishmanioses en 2007 figure ci-dessous.

Pour les CHU : les Laboratoires de Parasitologie-Mycologie des 19 CHU de : Nice (06), Marseille (13), Dijon (21), Besançon (25), Nîmes (30), Bordeaux (33), Montpellier (34), Rennes (35), Tours (37), Grenoble (38), St-Etienne (42), Clermont-Ferrand (63), Lyon (69), les divers établissements de l'AP-HP à Paris (75) (Cochin-St Vincent de Paul, St Louis, Pitié-Salpêtrières), Avicenne à Bobigny (93), Créteil (94), Fort-de-France (97.1).

Pour les CHG : Service de Pédiatrie du CH d'Aubenas (07), CH de Carcassonne (11), Service de Biologie du CH de Bastia (2B), Laboratoire de Bactériologie-Parasitologie du CH de Laval (53), Service des Maladies infectieuses et tropicales du CH de Perpignan (66), Unité de Parasitologie du CH de Colombes (92), Laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHG de Cayenne (97.3)

Pour les Hôpitaux d'Instruction des Armées : HIA Laveran à Marseille (13), HIA Clermont Tonnerre à Brest (29), HIA Robert Piquet à Bordeaux (33), HIA Legouest à Metz (57)

Autres structures sanitaires : l'Institut Pasteur de Cayenne (97.3).

Enfin deux **praticiens privés :** Dr Benattar à Montpellier (34), Dr Lalanne à Mont de Marsan (40).

Nous commenterons le réseau de structures déclarantes en 2007, plus bas, à propos de l'analyse que nous présentons sur les déclarations au cours des 10 années passées (1998-2007).

b. Cas humains déclarés en 2007

- France métropolitaine

En 2007, 93 fiches de déclaration de cas ont été reçues directement au CNRL, en majorité provenant de France métropolitaine (87 déclarations). Parmi ces fiches de déclaration, 30 cas concernaient une leishmaniose viscérale, 61 une leishmaniose cutanée et 2 cas de leishmaniose viscérale.

En France continentale, ont été déclarés en 2007 :

- 26 cas autochtones de leishmanioses, dont 22 cas de leishmaniose viscérale, 2 de leishmaniose cutanée et 2 de leishmaniose muqueuse,

- 64 cas importés de leishmanioses, dont 7 cas de leishmaniose viscérale et 57 cas de leishmaniose cutanée (dont 21 de Guyane française),

- dans 3 cas il n'a pas été possible de trancher sur l'origine, importée ou autochtone de la contamination.

Les nombres de cas autochtones déclarés en France continentale sont sensiblement supérieurs à ceux des années précédentes (Tableau IV). En particulier, le nombre de cas de leishmaniose viscérale est le plus élevé depuis 2001, avec en particulier 6 cas de plus qu'en 2006 (22 au lieu de 16). Ces cas proviennent des départements suivants : Alpes-Maritimes, Ardèche, Aude, Aveyron, Bouches-du-Rhône, Corse du sud, Gard, Hérault, Lozère, Pyrénées-

Orientales, et Var. Tous sont des départements du sud de la France situés dans la zone d'endémie leishmanienne connue.

Les cas de co-infection leishmaniose/Sida avaient tendance à décroître en France depuis 2004 : ils sont passés d'environ 8 à 10 par an jusqu'en 2003 à 3 ou 4 par an (4 en 2006). En 2007, c'est à nouveau 10 cas de co-infection qui ont été déclarés, dont 7 cas de LV/Sida (dont 4 autochtones), 2 cas de LC/Sida et 1 cas de LM/Sida (autochtone).

La leishmaniose dermique autochtone, bien qu'en nombre restreint (2 cas de leishmaniose cutanée et 2 de leishmaniose muqueuse en 2007) semble amorcer une reprise, après des années à chiffres nuls (2004-05).

Tableau IV.- Comparaisons des nombres de déclarations annuelles des cas faites au CNRL entre 1999 et 2007.

		1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Cas autochtones (France métropolitaine)	LV	22	30	31	18	20	18	19	16	22
	LC	1	0	4	4	2	0	0	3	1
	LM	1	0	0	1	1	0	0	0	2
Cas importés (en France métropolitaines)	LV	3	6	3	5	5	8	6	7	7
	LC	17	22	33	34	50	60	60	43	34
	LC Guyane	62	9	3	9	21	32	17	8	21
	LM	2	0	0	0	0	1	2	0	0
Origine non précisée										1
Total cas déclarés en France métrop.		108	67	74	71	99	119	102	77	88

- Guyane française :

Durant l'année 2007, le Laboratoire de Parasitologie-Mycologie (Professeur Bernard Carme) du Centre Hospitalier de Cayenne nous a adressé 123 déclarations de cas de leishmaniose cutanée diagnostiqués en Guyane, ce qui, ajouté aux cas guyanais qui nous ont été rapportés par des structures de soins de France métropolitaine, porte à 144 le nombre de cas de leishmaniose cutanée contractés en Guyane Française en 2007. Ce chiffre est pour la deuxième année consécutive en retrait par rapport à ceux des années précédentes (248 en 2003, 339 en 2004 et 261 en 2005), mais il est nettement supérieur à celui de 2006.

Nous avons attribué, dans notre rapport de l'année 2006, cette chute globale de l'incidence annuelle à des causes externes. Deux peuvent être retenues en particulier : la fermeture du Centre de Santé de Saint Elie, commune de l'intérieur où plus de 100 cas de LC avaient été comptabilisés de 2003 à mi-2005; et, deuxième élément, la lutte très active contre les orpailleurs étrangers en situation illégale qui les amène à la clandestinité, et qui donc ne fréquentent plus les centres de santé de l'intérieur.

De plus, un problème informatique survenu au deuxième semestre 2007 au laboratoire collaborateur de Cayenne a perturbé le recensement des cas, qui peuvent être, de ce fait, sous évalués.

La base de données Epidata, destinée à faciliter l'analyse des données de déclaration de Guyane française, et une éventuelle cartographie, développée en 2006 par le Département

international et tropical de l'INVs (MM Brice Rotureau et Arnaud Tarentola) n'est pas encore disponible. La demande d'autorisation à la CNIL est en cours.

c. Analyse rétrospective des déclarations de cas faites au CNRL depuis 10 ans (1998-2007)

Le CNRL étant arrivé en 2007 à sa dixième année de surveillance des leishmanioses en France métropolitaine, nous avons souhaité faire un bilan de cette activité, dont nous présentons ci-dessous les grandes lignes.

L'analyse des déclarations de cas faites en France métropolitaine depuis 1998 (Tableau V) montre que les structures déclarantes sont représentées majoritairement par les Centres hospitaliers universitaires (75 % en moyenne des déclarations annuelles). Plus de 12 % des déclarations viennent des Hôpitaux d'instruction des Armées. Cette sélectivité tient à deux particularités. D'abord les leishmanioses, en particulier la leishmaniose viscérale, sont le plus souvent des pathologies de structure spécialisée adressées aux CHU (diagnostic spécialisé et traitement difficile). D'autre part le passage réguliers de militaires en Guyane, fait que cette population est particulièrement exposée à la leishmaniose cutanée.

Tableau V.- Déclarations de cas de leishmanioses en France métropolitaine par département et par catégorie de structure déclarante

Années	Nombre de cas déclarés	Nombre de départements déclarants	Services déclarants (%)					
			CHU	CHG	HIA	Praticiens Privés	autre	Non précisé
1998	46	11	80.4	6.5	10.9	0	0	2.2
1999	108	15	54.9	2.0	43.1	0	0	0
2000	69	13	86.9	1.4	11.6	0	0	0
2001	74	18	81.8	9.4	4.1	1.4	0	4.1
2002	78	10	91.0	6.4	2.6	0	0	0
2003	96	14	64.6	4.2	10.4	0	13.5	7.3
2004	119	16	63.9	3.4	13.4	0	13.4	2.5
2005	104	21	79.8	4.8	8.6	6.3	0	0
2006	77	19	71.4	11.7	7.8	2.6	6.5	0
2007	93	27	73.1	10.7	12.9	2.1	1.1	0

Parmi les CHU déclarant le plus de cas et avec le plus de régularité figurent les CHU des zones endémiques : CHU de Nice (environ 15 cas/an), de Marseille (environ 10 cas/an) et de Montpellier (environ 5 cas/an). Hors zones endémiques, l'Assistance Publique et Hôpitaux de Paris sont les plus fort déclarants (environ 17 cas par an), puis les CHU de Créteil (4 à 5 cas/an), de Lyon (3 à 4 cas/an), de Rennes (2 à 3 cas/an) et de Tours (1 à 2 cas/an).

Les nombres de départements où sont faites des déclarations de cas montrent une tendance globalement croissante, passant de 11 départements déclarants en 1998 à 27 en 2007. Les régions déclarant le plus grand nombre de cas sont les régions des zones endémiques de la façade méditerranéenne : région Provence-Alpes-Côte-d'Azur (291 au cours des 10 dernières années), Languedoc-Roussillon (76 cas) et Rhône Alpes, par sa frange ouest qui fait partie du foyer cévenol (53 cas) (Figure 3).

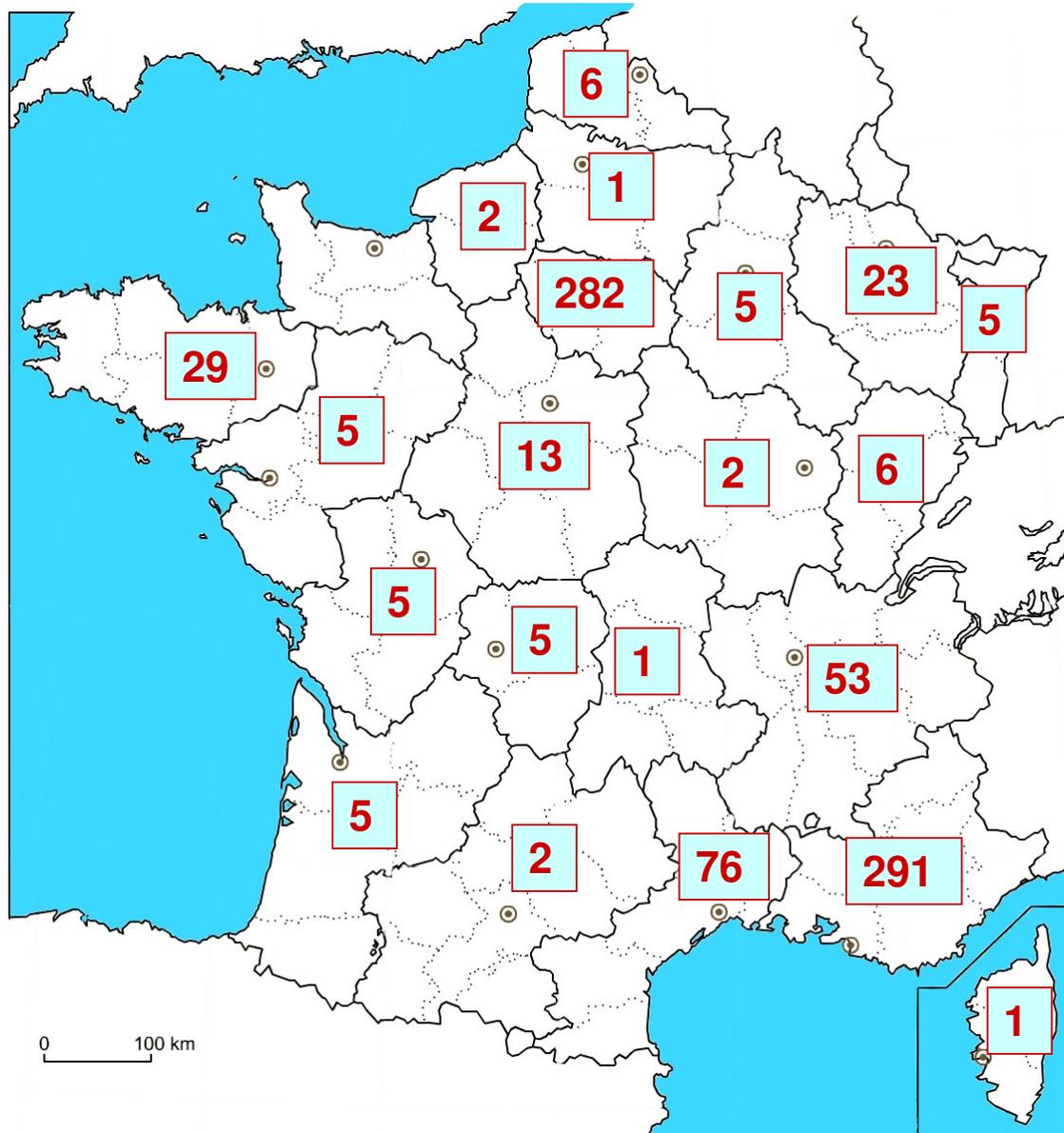


Figure 3.- Nombres de cas de leishmanioses (autochtones ou importés) déclarés au CNR des *Leishmania* par région au cours des dix dernières années (1998-2007).

Les chiffres élevés des régions PACA et Languedoc-Roussillon correspondent à une majorité de cas endémiques. De même pour la région Rhône-Alpes dont la partie sud-ouest correspond à l'extrémité du foyer cévenol. Ailleurs, les déclarations correspondent à des cas importés, particulièrement nombreux en Ile-de-France, du fait de la densité de population fréquentant les établissements de l'APHP et les CHU de départements de la couronne de Paris. Le chiffre élevé de la région Lorraine, correspond au grand nombre de cas de LC importés de Guyane par des militaires vus au retour par l'Hôpital d'Instruction des Armées Legouest de Metz.

Au cours des dix années de surveillance, la moyenne annuelle de cas de leishmanioses autochtones s'est établie à 21,7 et celle des cas importés (hors Guyane) à 24,1. Les fluctuations annuelles ont été marquées, avec des années à incidences fortes (2001 : 35 cas) et d'autres faibles (2004 : 18 et 2005 et 2006 19). Les années extrêmes sont de même niveau : 24 cas en 1999 et 26 en 2007.

Le nombre de cas importés en France métropolitaine (Guyane non comprise) ont régulièrement augmenté de 1999 (22 cas) à 2005 (69 cas), pour diminuer légèrement ensuite.

d. Etude de l'exhaustivité

Durant l'année 2007, nous avons vérifié l'exhaustivité de la méthode de surveillance utilisée, en réalisant la comparaison des résultats des déclarations de cas faites au CNRL avec la base de données nationale du PMSI qui recueille tous les séjours hospitaliers publics ou privés, et ceci pour l'année 2005 (année disponible pour le PMSI en 2007).

Les résultats ont montré que les déclarations faites au CNRL s'élevaient à 104 cas rapportés par 21 départements, alors que le nombre de « patients » comportant un diagnostic principal de leishmaniose, dans la base de données PMSI, s'élevait à 176. En ajoutant le nombre de patients comportant un diagnostic associé de leishmaniose, le nombre total de patients atteignait 284 dans la base de données PMSI. Parmi les 52 départements déclarant des leishmanioses au PMSI, un certain nombre n'adressent pas de déclarations de cas au CNRL. Ils sont situés aussi bien en zone d'endémie leishmanienne, qu'en dehors.

Ainsi, le croisement des données de la surveillance passive avec la base de données du PMSI a montré qu'un nombre non négligeable de cas échappaient au recensement du CNRL. L'analyse de cette étude est en cours, et une publication est en préparation.

Afin d'améliorer le système de surveillance par déclaration passive, une lettre d'information sur la surveillance des leishmanioses a été envoyée en décembre 2007 à 285 laboratoires de centres de santé de France métropolitaine, en ciblant particulièrement les centres hospitaliers généraux.

e. Détection et investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux

Il n'a pas été observé de cas groupés ou de phénomènes anormaux en 2007.

3. 2. Surveillance de la leishmaniose canine

Depuis 2006, nous avons entrepris la surveillance de la leishmaniose canine, en collaboration avec le Laboratoire de Parasitologie et Maladies parasitaires de l'Ecole Nationale vétérinaire (ENV) de Lyon (Pr G. Bourdoiseau).

Rappelons que la leishmaniose canine n'est pas une maladie à déclaration obligatoire en France. Les diagnostics établis par les vétérinaires praticiens ne sont pas centralisés. Aucune activité de surveillance n'est actuellement réalisée. C'est pourquoi, afin de tenter de mieux cerner le niveau de l'enzootie canine en France, nous avons poursuivi en 2007 les deux actions engagées en 2006 : i. réalisation d'une base de données rétrospective, ii. enquête par questionnaire auprès des vétérinaires praticiens.

a. Base de données rétrospective sur la leishmaniose canine

Dans le cadre d'un projet de recherche européen, (projet EDEN, *cf. infra*) nous avons réalisé une base de données rétrospectives prenant en compte les données disponibles sur la leishmaniose canine en France entre 1965 et 2005. Ont été collectés les cas autochtones ou les enquêtes de dépistage, rapportés dans des articles publiés, des thèses ou les registres de divers laboratoires ou de diverses structures. Les localités des cas ou des enquêtes ont été géo-référencées, par utilisation d'un système d'information géographique (SIG).

439 données ont été incluses dans la base de données, correspondant à 43 articles ou rapports et à 371 localités avec cas de leishmaniose canine.

L'exploitation de cette base de données a permis de positionner géographiquement chaque cas, ou chaque enquête, et de générer les premières cartes de répartition de la leishmaniose canine en France : localisation dans la partie méditerranéenne du pays, avec extension de quelques cas vers des départements continentaux plus au nord (Puy-de-Dôme, Indre-et-Loire), et vers l'ouest (Lot-et-Garonne) (figure 4 A). Sa distribution est indépendante de la densité de la population canine en France (Figure 4 B).

Un cartographie mono factorielle, variable par variable, a été réalisée qui permet de déduire des caractères de répartition simple de la leishmaniose canine. Cartographiée par rapport à l'altitude (Figure 4 A), la majorité des cas de leishmaniose canine apparaissent localisés entre 200 et 600 mètres. La localisation comparée aux précipitations de printemps et d'été montre que la leishmaniose canine est liée à des zones de précipitations inférieures à 200 mm durant la période de transmission. Par rapport aux températures minimales moyennes d'été et d'hiver (facteur thermique déterminant pour la biologie des phlébotomes), la leishmaniose canine apparaît corrélée à des températures minimales estivales de 12 à 15° C et des températures minimales hivernales de 0 à 6° C.

Ce travail se poursuit en 2008 avec des comparaisons de cartographies thématiques multiples (occupation des sols, climats, végétation) permettant la recherche des limites de la leishmaniose canine en relation avec les facteurs environnementaux et, à terme, la réalisation d'une modélisation spatiale rigoureuse et la confection de cartes de risque pour la leishmaniose canine.

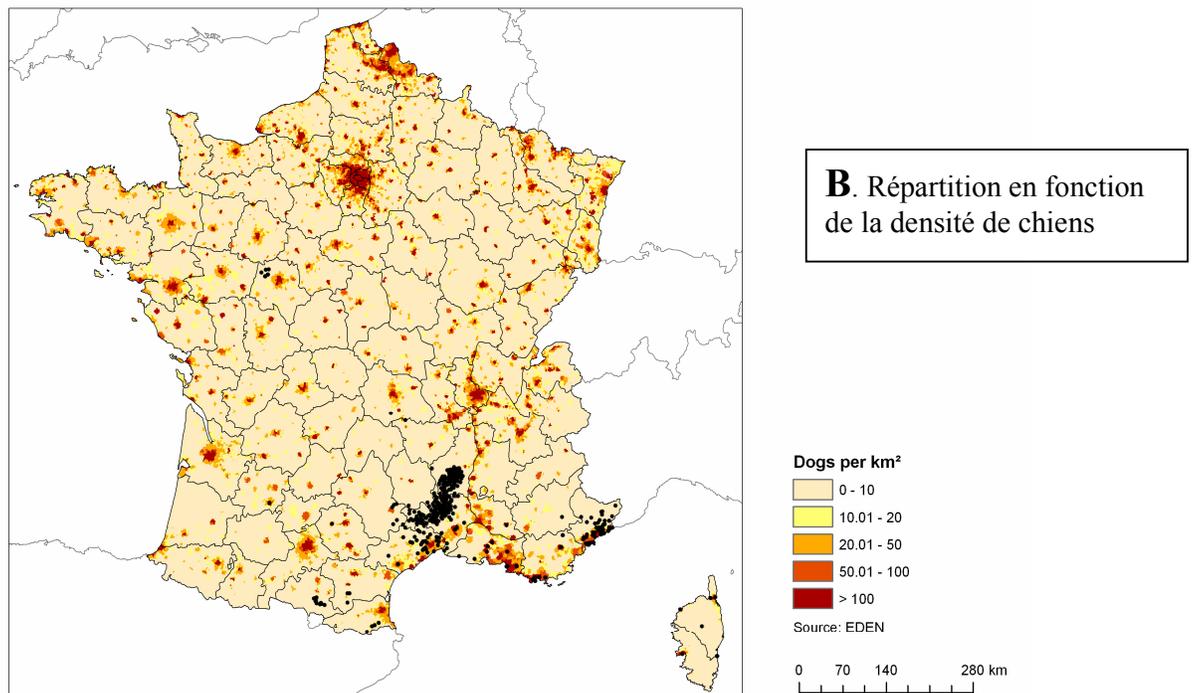
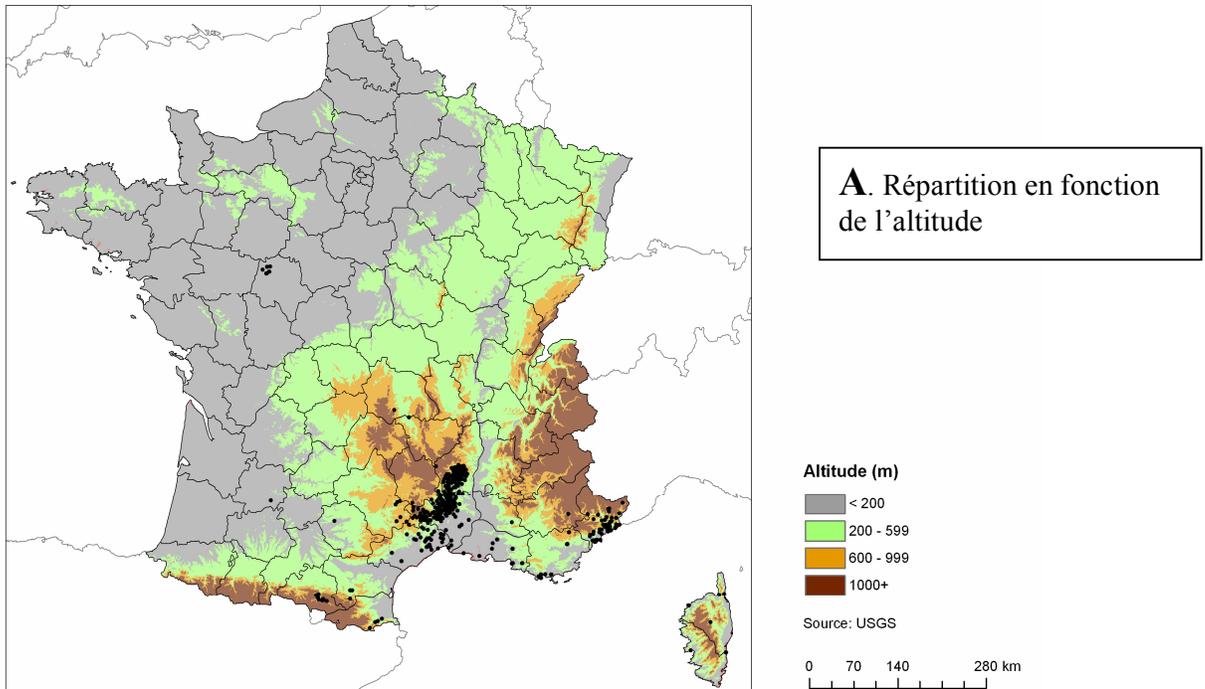
b. Enquêtes par questionnaires auprès des vétérinaires praticiens

En collaboration avec le Laboratoire de Parasitologie et maladies parasitaires de l'Ecole Vétérinaire de Lyon, nous avons réalisé en 2007 une enquête préliminaire par questionnaire auprès de vétérinaires praticiens destinée à évaluer la fiabilité de la méthode. Cette enquête a été conduite chez les vétérinaires de cinq départements (Ariège, Aude, Aveyron, Haute-Garonne et Gers). Sur 360 questionnaires envoyés aux vétérinaires exerçant dans ces départements (associations et vétérinaires exerçant seuls), 100 réponses ont été reçues (43,5 %). Les résultats font globalement apparaître des différences significatives entre une zone où la maladie est bien présente (Aude et Ariège) et une zone où la maladie est rare (Gers et Haute-Garonne).

L'exploitation de cette enquête a donné lieu à une thèse de Doctorat vétérinaire :
Meunier A. - Etude épidémiologique de la leishmaniose canine et de l'influence des facteurs environnementaux, en France depuis 1965, dans le sud-ouest en 2006. *Thèse de Doctorat Vétérinaire, soutenue le 30 novembre 2007, Université Claude Bernard – Lyon I, Lyon.*

Ce travail est poursuivi en 2008 par l'extension de l'enquête aux vétérinaires de 15 départements supplémentaires du sud de la France. La synthèse de ces enquêtes auprès des vétérinaires sera effectuée à la fin de l'étude.

Figure 4.- Répartition de la leishmaniose canine en France, d'après la base de données rétrospective développée dans le cadre du Projet EDEN



c. Enquêtes sérologiques de prévalence :

Durant l'année 2007, nous avons réalisé une enquête sérologique de prévalence de la leishmaniose canine dans le département de l'Ariège. Les villages échantillonnés ont été les mêmes que ceux déjà prospectés en 1994, distribués en deux groupes : 6 villages de vallée et 7 villages de pente. Les prélèvements ont été effectués au cours de deux missions de terrain ; les sérums obtenus ont été testés par immunofluorescence indirecte (seuil de positivité : 1/80). Cette étude a montré une inversion des séropositivités des chiens selon les deux groupes de villages : la séropositivité des villages de vallée est passée de 11,1 % en 1994 à 2,7 % en 2007, alors que celle des villages de pente passait de 1,4 % en 1994 à 11,3 % en 2007.

La baisse de séro-prévalence dans les villages de vallée peut être attribuée à l'utilisation de colliers insecticides à la deltaméthrine (51 % des chiens en portaient en 2007, aucun en 1994, le collier n'existant pas à cette époque). L'augmentation de la séroprévalence des villages de pente peut être liée à l'accroissement de température de 1° entre 1994 et 2007.

Ce travail fait l'objet d'un article en préparation.

d. Surveillance des souches d'origine canine

En 2007, nous avons entrepris la surveillance des souches isolées chez le chien, sur les cas diagnostiqués à la consultation clinique de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, ou adressés par des vétérinaires praticiens du sud de la France. Le typage est effectué par méthodes isoenzymatique et moléculaire (*cf. supra*). Ainsi en 2007, 10 souches ont été identifiées comme *L. infantum*.

3. 3. Contribution aux réseaux de surveillance internationaux

Le CNRL participe au réseau international de Surveillance de la co-infection *Leishmania*/VIH coordonné par l'Organisation Mondiale de la Santé, auquel il déclare les cas autochtones de co-infection signalés sur le territoire national (WHO/UNAIDS Surveillance Network).

Durant l'année 2007, Jean-Pierre Dedet a participé au Fifth Informal Consultative Meeting on *Leishmania* / HIV Co-infection, qui s'est déroulé du 20 au 22 mars 2007, à Addis Abeba. Les conclusions de la réunion figurent dans le rapport terminal : Report of the Fifth consultative meeting on *Leishmania*/HIV coinfection. Addis Ababa, Ethiopia, 20-22 March 2007. WHO/CDS/NTD/IDM/2007.

La mise en commun des données des centres d'identification de Montpellier, Madrid et Rome, portant sur les souches isolées de cas de co-infection a permis une étude de synthèse portant sur l'identification, selon la même technique d'électrophorèse des isoenzymes, de 924 souches collectées entre 1986 et 2005 dans cinq pays du sud de l'Europe (Espagne, France, Grèce, Italie et Portugal). Cette synthèse que nous avons présentée au Symposium sur la co-infection *Leishmania*/VIH, organisé par l'OMS à Addis Abeba en mars 2007, a fait l'objet d'une communication au Fifth European Congress of Protistology, St Petersburg (Russie), 23-27 Juillet 2007.

4. ALERTE

En cas d'apparition de cas groupés ou apparition de phénomènes anormaux, ou de souches nouvelles, trois procédures d'alerte ont été définies :

- pour la France métropolitaine : alerte au niveau local (DDASS), régional (Cellule Interrégionale d'Epidémiologie du Languedoc-Roussillon), et au niveau national (Institut de Veille sanitaire),
- pour les cas militaires : alerte de l'Unité de surveillance épidémiologique, Institut de Médecine tropicale, Service de Santé des Armées, Marseille,
- pour l'étranger : alerte de l'expéditeur de la souche.

En 2007, nous n'avons pas déclenché d'alerte.

5. ACTIVITES D'INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL

5.1. Information

Le site internet du Laboratoire de Parasitologie-Mycologie (www.parasitologie.univ-montpl.fr) mis en ligne fin 2004 inclut les pages spécifiques du CNRL. D'abord seulement en langue française, il a fait l'objet d'une version en langue anglaise (en 2005) puis en langue espagnole (en 2006). En 2006 également, les pages spécifiques du CNRL ont été mieux individualisées et ciblées dès la page d'accueil du site, pour une meilleure lisibilité. De même le catalogue de la collection est accessible dès la page d'accès.

Les pages du site incluent toute l'information sur la réglementation et les conditions d'expédition des souches, la démarche pour les déclarations de cas, ainsi que les activités du CNRL (rapports d'activité en ligne). Assurant une meilleure communication, il devrait permettre une meilleure exhaustivité des déclarations des cas de leishmanioses et une optimisation des activités du CNRL. Le site internet a fait l'objet d'une mise à jour en 2007.

Une rétro-information des déclarations de cas de leishmanioses a été effectuée en mai 2007 par lettre auprès de tous les déclarants 2006. Nous effectuerons la même rétro-information en mai 2008, auprès des déclarants de 2007.

5.2. Formation

En 2007, sept stagiaires ont été reçus au CNRL, dont trois Français, deux Algériens, un Italien et un Burkinabé (Tableau VI).

5.3. Conseil thérapeutique :

Le traitement des leishmanioses tégumentaires et viscérales est difficile car les produits disponibles ont une efficacité limitée, dépendante de l'espèce leishmanienne infectante. Ces produits peuvent exposer à des effets indésirables sévères et requièrent de ce fait des modalités de suivi spécifiques. Plus de 100 essais comparatifs ont évalué les différents produits anti-leishmaniens disponibles sans aboutir à un algorithme décisionnel simple.

Tableau VI.- Stagiaires reçus au CNRL en 2007

NOM – PRENOM	LABORATOIRE D'ORIGINE	DATE(S) DU (DES) STAGE(S)
AIT OUDHIA Khatima	Ecole Nationale Vétérinaire d'El Harrach <i>ALGER (ALGERIE)</i>	19 décembre 2006 au 11 janvier 2007 9 juillet au 9 septembre 2007
MANSOURI Roukia	Laboratoire de Parasitologie, Faculté de Médecine, <i>ANNABA (ALGERIE)</i>	10 janvier au 10 février 2007
PIAZZA Maria	Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, <i>PALERME (ITALIE)</i>	16 au 26 janvier 2007
SANGARE Ibrahim	Laboratoire de Parasitologie, CHU, <i>BOBO DIOULASSO (BURKINA FASSO)</i>	24 juillet au 10 août 2007
BRIOLAND	Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées, <i>MARSEILLE (FRANCE)</i>	11 septembre 2007
ISSARTET Edith MUR Claudine	Laboratoire de Parasitologie, CHU , <i>GRENOBLE (FRANCE)</i>	15-16 octobre 2007

C'est pourquoi, le CNRL a mis en place en 2006 une structure de conseil thérapeutique téléphonique destinée aux médecins. Ce Conseil thérapeutique des leishmanioses proposé, est basé sur une collaboration entre le CNRL et le Centre Médical de l'Institut Pasteur.

Il permet de proposer au corps médical, soit en direct, soit pour les cas plus complexes dans les 48 heures, une option thérapeutique au cas par cas, la responsabilité de prescription demeurant toutefois entre les mains du médecin directement en charge du patient. Il doit en outre permettre d'améliorer le recueil et la déclaration des effets indésirables graves des médicaments antileishmaniens en relation avec les services de pharmacovigilance.

Durant l'année 2007, 19 appels téléphoniques pour conseil thérapeutique ont été reçus et traités, dont 16 à Paris et 3 à Montpellier. Ils concernaient 13 cas de LC, 3 cas de LV et 3 cas de leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM). Trois des patients présentaient un co-infection par le VIH.

Les appels pour LV provenaient de CHU (2 fois) et CHG (1 fois), les trois appels pour LCM provenaient tous de CHU. Sur les 13 appels pour cas de LC, trois provenaient de praticiens libéraux, et 10 de CHU. L'espèce de parasite responsable était connue dans 9 cas, suspectée dans 19.

Nous avons prévu d'organiser en 2007 une conférence de consensus sur la thérapeutique des leishmanioses. Un contact a été pris avec la Société de Pathologie infectieuse de Langue française qui doit examiner notre demande, pour suite à donner ultérieure.

6. TRAVAUX DE RECHERCHE EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR

Le CNRL participe à plusieurs programmes de recherche conduits dans le Laboratoire de Parasitologie-Mycologie et de l'unité labellisée FRE 3093 (CNRS-Université Montpellier 1) : « Biologie moléculaire et génome des protozoaires parasites », dirigée par Jean-Pierre Dedet. Il développe de plus des programmes spécifiques.

A noter qu'à compter du 1^{er} janvier 2008, dans le cadre de la contractualisation des Universités, l'unité FRE 3093 va fusionner avec l'UMR 2724 (unité mixte IRD-CNRS-Universités Montpellier 1 et 2) : « Génétique et évolution des maladies infectieuses » (Direction F. Renaud).

6. 1. Projet européen : Quality of life and Management of Living Resources

Ce projet (QLK2-CT-2001-01810) : "Diagnostic and epidemiological markers for tracking of endemic and resurgent European leishmaniasis" comprenait divers partenaires européens : M. Miles, Londres, UK; J.C. Dujardin, Anvers, Belgique; G. Schönian, Berlin, Allemagne; J. Lukes, Ceske Budejovice, Tchéquie; L. Campino, Lisbonne Portugal; J. Alvar, Madrid, Espagne; J.P. Dedet, Montpellier, France; K. Soteriadou, Athènes, Grèce. (2001-2005). Ce projet, terminé en 2006, a généré plusieurs publications parues en 2007 et qui figurent dans la liste fournie ci-dessous.

La gestion de la base de données et du site internet du programme (www.leishdomus.org) est poursuivie par notre équipe (Y. Balard).

6.2. Projet Européen EDEN

Le projet EDEN, pour "Emerging Diseases in changing European environment" . (6ème PCRD; Contrat n° 010284) comprend un consortium de 46 participants des pays européens et pays associés hors Europe. Ce programme a débuté en novembre 2004 et se poursuivra jusqu'en 2009.

Notre laboratoire participe à la composante « Leishmanioses » (acronyme EDEN-LEISH) du projet. L'objectif global de cette composante est d'identifier, évaluer et catégoriser les écosystèmes européens et les conditions environnementales liées aux changements globaux, qui peuvent influencer la distribution spatiale et l'évolution et la dynamique des foyers leishmaniens en Europe.

Le CNRL est partie prenante de ce projet auquel il apporte l'appui de ses données de référence (souches identifiées, registres de cas humains). Nous avons ainsi réalisé une base de données rétrospective sur la leishmaniose canine en France (*cf. supra*) et une base de données rétrospective sur la leishmaniose humaine en France est en cours d'établissement. L'exploitation écologique et cartographique de ces travaux est en cours.

6.3. Structuration génétique des populations de *L. tropica* sur l'ensemble de l'aire de répartition de l'espèce.

Le projet de recherche clinique A.O.I.2003 (PHRC local du CHU de Montpellier) a donné lieu au développement d'une approche de typage moléculaire par MLST dans le cadre

du CNRL, et a bénéficié de la très grande diversité de souches de la collection de *Leishmania*. Il a été l'occasion de mettre en place une analyse de la structuration génétique des populations d'une espèce de *Leishmania* responsable principalement de LC dans l'Ancien Monde, *L. tropica*.

Ce travail met évidence, pour la première fois, la grande fréquence de souches de génotypes hybrides dans les foyers naturels d'infection. Il permet de mieux comprendre l'évolution génomique du parasite et les modalités des échanges génétiques dans ce groupe..

Ce travail a fait l'objet d'un mémoire de Master 2 Recherche (Morio Florent) et d'une thèse d'exercice de Doctorat en Pharmacie (Morio F. Etude de la dynamique allélique du protozoaire parasite *Leishmania tropica*. Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie, soutenue le 20 septembre 2007, Faculté de Pharmacie de Montpellier). Un article faisant la synthèse de ce travail est en cours de soumission.

6.4. PHRC interne CHU de Montpellier

Dans le cadre de l'Appel d'Offre Interne 2006 du CHU de Montpellier, un projet de recherche a été accepté pour financement sur le thème : « Etude de la chimio-résistance à l'amphotéricine B de souches de *Leishmania infantum*, agent de la leishmaniose viscérale méditerranéenne, provenant des C.H.U. de Montpellier et Nîmes ».

Ce projet porte sur le développement de nouvelles techniques de mesure de la sensibilité de *L. infantum* à l'amphotéricine B liposomale, avec pour objectif d'améliorer le délai de rendu des résultats. Ce travail fait partie d'une thèse de doctorat d'Université (Nathalie Bourgeois).

6. 5. Projet « Impact de l'anthropisation et de l'environnement sur le fonctionnement des foyers de leishmanioses »

Ce projet est financé dans le cadre du Programme « Santé environnement et Santé travail » de l'ANR. Ce projet coordonné par T. de Meeûs (IRD), associe l'IRD, l'Université de Reims, l'Université des Antilles et de la Guyane, et les Universités Montpellier 1 et 2.

Il porte sur l'analyse génétique et épidémiologique des leishmanioses dans le sud de la France, en Guyane française et au Sénégal. Ce projet a débuté en 2007 et s'étendra sur 3 ans.

7. LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Treize publications dans des revues internationales à comité de lecture, cinq communications dans des congrès nationaux ou internationaux (dont quatre invitées) et une conférence invitée, ont été générées par l'activité du CNRL, durant l'année 2007. Elles sont listées ci-dessous.

7.1. Publications internationales

Foulet F., Botterel F., Buffet P., Morizot G., Rivollet D., Deniau M., Pratlong F., Costa J.M., Bretagne S. Detection and identification of *Leishmania* species from clinical specimens by

using a real-time PCR assay and sequencing of the cytochrome B gene. *J Clin Microbiol.*, 2007, 45: 2110-2115.

Fouque F., Gaborit B., Issaly J., Carinci R., Gantier J.C., Ravel C., Dedet J.P. Phlebotomine sandflies (Diptera : Psychodidae) associated with changing patterns in transmission on the human cutaneous leishmaniasis in French Guiana. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2007, 102: 35-40.

Gangneux J.P., Sauzet S., Donnard S., Meyer N., Cornillet A., Pratlong F., Guiguen C. Recurrent American cutaneous leishmaniasis. *Emerg Infect Dis.* 2007, 13:1436-1438.

Haouas N., Gorcii M., Chargui N., Aoun K., Bouratbine A., Messaadi Akrouf F., Masmoudi A., Zili J., Ben Said M., Pratlong F., Dedet J.P., Mezhoud H., Azaiez R., Babba H. Leishmaniasis in central and southern Tunisia : current geographical distribution of zymodemes. *Parasite*, 2007, 14 : 239-246.

Haouas N., Pesson B., Boudabous R., Dedet J.P., Babba H., Ravel C. Development of a new molecular tool for the identification of *Leishmania* reservoir hosts by blood meal analysis in the insect vectors. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2007, 77: 1054-1059

Haralambous C., Dakkak A., Pratlong F., Dedet J.P., Soteriadou K. First detection and genetic typing of *Leishmania infantum* MON-24 in a dog from the Moroccan Mediterranean coast : genetic diversity of MON-24. *Acta tropica*, 2007, 103 : 69-79.

Haralambous C., Antoniou M., Pratlong F., Dedet J.P., Soteriadou K. Development of a molecular assay specific for the *Leishmania donovani* complex that discriminates *L. donovani*/*L. infantum* zymodemes : a useful tool for typing MON-1. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.*, 2007 : in press.

Lukes J., Mauricio I.L., Schönian G., Dujardin J.C., Soteriadou K., Dedet J.P., Kuhls K., Tintaya W.Q., Jirku M., Chocholova E., Haralambous C., Pratlong F., Obornik M., Horak A., Ayala F.J., Miles M. Evolutionary and geographical history of the *Leishmania donovani* complex with a revision of current taxonomy. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 2007, 104 :9375-9380.

Marty P., Izri A., Ozon C., Haas P., Rosenthal E., Del Giudice P., Godenir J., Coulibaly E., Gari-Toussaint M., Delaunay P., Ferrua B., Haas H., Pratlong F., Le Fichoux Y. A century of leishmaniasis in Alpes-Maritimes, France. *Ann Trop Med Parasitol.*, 2007, 101:563-574.

Morizot G., Del Giudice P., Caumes E., Laffite E., Marty P., Dupuy A., Sarfati C., Hadj-Rabia S., Darié H., Le Guern A.S., Ben Salah A., Pratlong F., Dedet J.P., Grögl M., Buffet P. Healing of Old World cutaneous leishmaniasis in travelers treated with fluconazole : drug effect or spontaneous evolution ? *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2007, 76 : 48-52.

Rotureau B., Couppié P., Nacher M., Dedet J.P., Carme B. Les leishmanioses cutanées en Guyane française. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 2007, 100 : 251-260.

Zerpa O., Ulrich M., Blanco B., Polegre M. Avila A., Matos N., Mendoza I., Pratlong F., Ravel C., Convit J. Diffuse cutaneous leishmaniasis responds to miltefosine but then relapses. *Br J Dermatol.*, 2007, 156: 1328-1335.

Volf P., Benkova I., Myskova J., Sadlova J., Campino L., Ravel C. Increased transmission potential of *Leishmania major/Leishmania infantum* hybrids. *Int. J. Parasitol.* 2007, 37 : 589-593.

7.2. Communications nationales :

Dedet J.P. - L'infection humaine à *Leishmania infantum* dans le sud de la France : modalités cliniques et épidémiologiques ». *Symposium « Maladies vectorielles canines : un sujet d'actualité et d'avenir »*. (Bayer HealthCare), Paris, France, 10 avril 2007 (Communication invitée)

Dedet J.P. - L'extension des leishmanioses : entre modifications environnementales et comportements humains. *Séance commune de l'Académie Nationale de Médecine et de l'Académie des Sciences d'Outre-mer*. Paris, France, 20 novembre 2007 (Communication invitée).

7.3. Communications internationales :

Dedet J.P. - *Leishmania* identification in co-infected patients around the world. *5th Informal Consultative Meeting on Leishmania-HIV co-infection*. Addis Abeba, Ethiopie, 20-22 mars 2007. (Communication invitée).

Dedet J.P. - Epidemiology of the European foci of human leishmaniasis. *2nd Canine Vector-borne Diseases (CVBD) Symposium*, Mazara del Vallo, Sicile, Italie, 25-28 avril 2007. (Communication invitée).

Dedet J.P., Pratlong F., Chicharro C., Gramiccia M., Canavate C., Campino L., Alvar J. - *Leishmania infantum* identification during *Leishmania*/HIV co-infection in southern Europe : study of 972 strains isolated between 1896 and 2005. *5th European Congress of Protistology*, Saint Petersburg, Russia, 23-27 Juillet 2007.

7.4. Conférences sur invitation

Dedet J.P. - Les leishmanioses. *Colloque Ecrin des Clubs Biotechnologies et Energie « Effet de serre et réchauffement climatique : quel impact sur les maladies infectieuses à vecteurs ? »*, Institut Pasteur, Paris, France, 18 janvier 2007 (Conférence invitée).

8. PROGRAMME D'ACTIVITE

Le programme d'activité pour les deux années à venir comporte la poursuite des activités d'expertise, de surveillance, d'alerte et de conseil. Dans chacun de ces domaines nous nous efforcerons d'améliorer nos performances et d'accroître nos activités.

Au point de vue organisationnel, la démarche qualité sera poursuivie, l'objectif de la certification que nous nous sommes fixés constituant une de nos priorités.

8. 1. Expertise

L'identification des souches de *Leishmania* sera poursuivie en 2008, avec une tendance à la majoration du typage moléculaire. L'identification isoenzymatique des souches sera réservée à l'espèce *L. infantum* du sud de la France et du Bassin méditerranéen, et aux cas particuliers où la précision de l'identification au niveau infra-spécifique est nécessaire.

La surveillance de la résistance médicamenteuse des souches de *Leishmania* circulantes sera poursuivie.

8. 2. Surveillance

a. Leishmanioses humaines

A la suite de l'étude comparative que nous avons menée avec la base de données PMSI, nous nous efforcerons d'améliorer l'exhaustivité des déclarations que nous recevons. A cet effet, nous intensifierons les contacts avec les déclarants réguliers et nous entrerons en contact avec les hôpitaux des structures des zones endémiques qui ne nous déclarent pas de cas. Nous envisageons des contacts avec les CIRE. Nous proposerons à l'INVs la création sur son site internet d'un « dossier thématique » sur les leishmanioses susceptible d'inciter les praticiens à déclarer au CNRL.

Dès le retour de l'autorisation de la CNIL, la base de données EpiData réalisée sera utilisée pour le traitement des données de la Guyane.

L'étude comparative de la surveillance et de la base de données du PMSI en 2005 fera l'objet d'une publication.

b. Leishmaniose canine

Les actions entreprises en 2007 seront poursuivies et la collaboration avec le Laboratoire de Parasitologie et maladies parasitaires de l'ENV de Lyon intensifiée.

La base de données rétrospective sera exploitée et une analyse cartographique multifactorielle réalisée. L'enquête par questionnaire auprès des vétérinaires fera l'objet d'une analyse synthétique.

La surveillance des souches de leishmaniose canine sera amplifiée, grâce au réseau de vétérinaires que l'ENV de Lyon a constitué. Ce réseau pourrait être un axe important de la surveillance de la leishmaniose canine en France métropolitaine. Il pourrait également permettre l'étude de la leishmaniose féline, dont une progression importante du nombre de cas est rapportée dans certains pays d'Europe, en particulier en Italie.

8.3. Conseil

Le conseil thérapeutique téléphonique sera poursuivi.

Dans le domaine de la thérapeutique des leishmanioses, nous préparons une réunion spéciale de la Société de Pathologie exotique qui sera consacrée à ce sujet, au cours de laquelle une Table-ronde essaiera d'unifier les conduites thérapeutiques.

8.4. Recherche

Les projets de recherche en cours seront développés particulièrement dans leur interface avec le CNRL (projet européen EDEN et les deux PHRC). Dans le cadre du projet EDEN, les données des cas autochtones déclarés au CNRL depuis 10 ans seront inclus dans une base de données et feront l'objet d'une étude cartographique complémentaire avec celle qui est en cours pour la leishmaniose canine (cf. supra).

Une étude de taxonomie numérique seront effectuées pour déterminer la position taxonomique de la *Leishmania* nouvelle de Côte d'Ivoire,

Dans le domaine de l'épidémiologie génétique, l'étude sur la génétique des populations de *L. tropica* sera poursuivie.

8.5. Publications

Dans les deux années à venir, nous prévoyons la réalisation de plusieurs articles de synthèse que permettent à la fois notre expertise dans le domaine des leishmanioses et l'accumulation de très nombreuses données. En effet, trente années d'activité de la cryobanque, avec toute la richesse d'une collection de plus de 5500 souches conservées et identifiées, et toutes les données cliniques et épidémiologiques associées, nous donnent une vision globale des leishmanioses sur quatre continents, notamment dans le domaine épidémiologique.

La contribution de l'analyse isoenzymatique à la connaissance des foyers de leishmaniose cutanée d'Afrique, du Proche et du Moyen-Orient, présentée à des congrès au cours de l'année 2006, fait l'objet d'un article en cours de soumission. Un travail similaire sera réalisé pour la leishmaniose viscérale du Bassin méditerranéen.

Enfin, la cryobanque de *Leishmania* de Montpellier est une collection unique au service de la communauté scientifique internationale. Nous ressentons la nécessité de traduire dans un article scientifique à large diffusion l'état actuel de sa structure, de sa richesse et de présenter les services qu'elle peut rendre. Nous souhaitons conduire ce travail en 2008.

Remerciements

Je souhaite remercier l'ensemble des personnels du CNRL pour le travail qu'ils ont fourni en 2007, les laboratoires collaborateurs et leurs responsables (Pr Bernard Carme, CHG de Cayenne, Pr Gilles Bourdoiseau, à l'ENV de Lyon et Dr Pierre Buffet, à l'Hôpital Pitié-Salpêtrière, à Paris).

Je voudrais également remercier l'Institut de Veille sanitaire pour son appui efficace aux actions du CNRL, et tout particulièrement les correspondants du CNRL, Mme Christine Saura au Secrétariat des CNR, Mme Dominique Jeannel et M Arnaud Tarentola.

A Montpellier, le 14 avril 2008

Professeur Jean-Pierre Dedet