

Rapport annuel d'activité

2014

**Centre national de
référence des
Leishmanioses**

**Année d'exercice
2013**

SOMMAIRE

1. MISSION ET ORGANISATION DU CNR	9
1.1. RAPPEL DES MISSIONS ET OBJECTIFS DU CNR	9
1.2. ORGANISATION ACTUELLE DU CNR (DEPUIS LE 1 ^{ER} JANVIER 2012).....	9
1.3. DESCRIPTION DE L'ÉQUIPE : PERSONNELS DÉVOLUS DANS LES ACTIVITÉS.....	9
1.4. LOCAUX ET ÉQUIPEMENTS (CNR ET LABORATOIRES ASSOCIÉS):.....	9
1.5. DESCRIPTION DE LA DÉMARCHE QUALITÉ DU LABORATOIRE (ACTUALISATION).....	9
1.5.1. CNR Montpellier	9
1.5.2. Laboratoire Associé de Cayenne.....	9
2. ACTIVITES D'EXPERTISE	10
2.1. CAPACITÉS TECHNIQUES DU CNR	10
2.1.1. Liste des techniques de référence.....	10
2.1.2. Collections de matériels biologiques	10
2. ACTIVITES D'EXPERTISE EN 2013	11
2.1. ÉVOLUTIONS DES TECHNIQUES AU COURS DE L'ANNÉE 2013	11
2.2. ACTIVITÉS D'EXPERTISE DE L'ANNÉE 2013	11
2.2.1. Expertise diagnostique	11
2.2.2. Réception de souches de <i>Leishmania</i>	13
2.2.3. Distribution de souches de <i>Leishmania</i>	14
2.2.4. Typage biochimique (isoenzymatique).....	15
2.2.5. Identification moléculaire	15
2.2.6. Maintien et dynamique de la Collection de souches du CNR	16
2.3. ÉVOLUTION DES TENDANCES	17
3. ACTIVITES DE SURVEILLANCE	17
3.1. SURVEILLANCE DE L'ÉVOLUTION ET DES CARACTÉRISTIQUES DE L'INFECTION.....	18
3.1.1. Réseau de partenaires	18
3.1.2. Analyse de la distribution des différents types d'agents caractérisés en fonction des critères pertinents (âge, sexe, géographie) et analyse des tendances	19
3.1.3. Analyse de la distribution des cas	20
3.1.4. Analyse de la situation de la Guyane Française.....	21
3.2. SURVEILLANCE DE LA RÉSISTANCE DES <i>LEISHMANIA</i> AUX PRODUITS ANTI-LEISHMANIENS	22
3.3. PARTICIPATION AUX RÉSEAUX DE SURVEILLANCE	22
3.3.1. Contribution à la surveillance nationale en interface avec l'InVS	22
3.3.2. Contribution aux réseaux de surveillance internationaux	23
4. ALERTE	23
5. ACTIVITES D'INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL	23
5.1. FORMATION – ENSEIGNEMENTS - STAGIAIRES.....	23
5.1.1. Enseignements	23
5.2.2. Stagiaires.....	24
5.2. INFORMATION, DIFFUSION	24
5.3. CONSEIL AUX PROFESSIONNELS DE SANTÉ.....	25
6. TRAVAUX DE RECHERCHE EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR.	26

6.1. ACTIVITÉS DE RECHERCHE.....	26
6.1.1. Analyse génétique multilocus de <i>Leishmania</i> d'Afrique et d'Eurasie.....	26
6.1.2. Etude rétrospective de la déclaration des cas de leishmanioses en France	26
6.1.3. Projet DGRST "Eco-épidémiologie de la leishmaniose cutanée à <i>Leishmania</i> <i>killicki</i> en Tunisie".....	26
6.1.4. Projet européen FP7 "EDENext" (Biology and control of vector-borne infections in Europe).....	27
6.1.5. Projet européen LeishMan « Improving treatment of Leishmaniasis based on species differentiation ».	27
6.1.6. Travaux de recherche en santé humaine avec les Centres Collaborateurs de Marseille et Nice	28
6.1.7. Programme de collaboration avec l'université de Kohat (Pakistan).....	28
6.1.8. Autres travaux collaboratifs en recherche	28
6.2. LISTE DES PUBLICATIONS.....	29
6.2.1. Publications nationales	29
6.2.2. Publications internationales	29
6.2.3. Communications à congrès nationaux	30
6.2.4. Communications à congrès internationaux.....	31
7. COLLABORATION AVEC LES STRUCTURES DE SANTÉ ANIMALE POUR LA SURVEILLANCE DES LEISHMANIOSES ANIMALES	32
8. PROGRAMME D'ACTIVITE 2014-2015	33
8.1. ACTIVITÉS D'EXPERTISE	33
8.1.1. Maintien et dynamique de la Collection de souches du CNR	33
8.1.2. Participation à l'évaluation et à l'amélioration du diagnostic moléculaire des leishmanioses	34
8.2. CONTRIBUTION À LA SURVEILLANCE DES LEISHMANIOSES	34
8.2.1. Surveillance des leishmanioses humaines.....	34
8.2.2. Collaboration avec les structures en santé animale pour la surveillance de la leishmaniose animale	36
8.3. CONSEIL, INFORMATION, FORMATION	36
8.4. RECHERCHE EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITÉ DU CNR.....	36
8.4.1. Projet européen EDENext.....	36
8.4.2. Projet européen LeishMan « Improving treatment of Leishmaniasis based on species differentiation ».	37
8.4.3. Recherche en santé humaine en collaboration avec les Centres Collaborateurs du CNR.....	37
8.4.4. Recherche en collaboration avec les structures travaillant en santé animale et en entomologie médicale.....	37
8.4.5. Autres projets de recherche en collaboration.....	39
8.4.6. Projets internes au CNR directement adossés à la Collection.....	39
8.4.7. Activités de Publication.....	40
REMERCIEMENTS.....	40
LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES CONTENUS DANS CE DOCUMENT	41
ANNEXES.....	42
1. MISSION ET ORGANISATION DU CNR.....	42
1.1. RAPPEL DES MISSIONS ET OBJECTIFS DU CNR	42
1.2. ORGANISATION ACTUELLE DU CNR	42

1.3. DESCRIPTION DE L'ÉQUIPE : PERSONNELS DÉVOLUS DANS LES ACTIVITÉS.....	42
1.4. LOCAUX ET ÉQUIPEMENTS (CNR ET LABORATOIRES ASSOCIÉS):.....	42
1.5. DESCRIPTION DE LA DÉMARCHE QUALITÉ DU LABORATOIRE.....	42
2. CAPACITÉS TECHNIQUES DU CNR.....	42
2.1. LISTE DES TECHNIQUES DE RÉFÉRENCE.....	42
2.1.1. <i>Diagnostic</i>	42
2.1.2. <i>Typage biochimique : Identification iso-enzymatique</i>	42
2.1.3. <i>Typage moléculaire</i>	42
2.1.4. <i>Autres techniques de typage</i>	42
2.1.5. <i>Etude in vitro de la chimiosensibilité des souches de Leishmania</i>	42
2.2. COLLECTIONS DE MATÉRIELS BIOLOGIQUES	42
2.2.1. <i>Collection de souches de Leishmania (Centre de Ressources Biologiques)</i>	42
2.2.2. <i>Application informatique de gestion de la collection du CNR</i>	42
2.2.3. <i>Conditions de mise à disposition de la collection</i>	42
2.2.4. <i>Collection d'ADN de Leishmania</i>	42
2.3. LISTE DES TECHNIQUES (DIAGNOSTIC/IDENTIFICATION, TYPAGE, SENSIBILITÉ AUX ANTI- INFECTIEUX...) RECOMMANDÉES PAR LE CNR	42

Résumé analytique

Le Sud de la France représente depuis les années 1920 une **zone d'endémie stable de leishmaniose** viscérale (LV) à *L. infantum*. La **maladie humaine**, bien qu'à un niveau faible, y est régulièrement entretenue grâce à l'existence d'une **enzootie canine très active**. La progression de la leishmaniose canine, tant au plan numérique que territorial, crée une situation épidémiologique **d'autant plus préoccupante que le réchauffement climatique** fait craindre une multiplication des populations de phlébotomes vecteurs et/ou l'extension de leur territoire géographique. La lutte contre la leishmaniose canine, bien que non organisée au niveau étatique, est en train de prendre un nouveau tournant avec les mesures de protection prises par les propriétaires de chiens en zone endémique (colliers répulsifs et vaccin CaniLeish®): il n'existe cependant encore aucune évaluation de l'effet de ces mesures sur l'enzootie. De plus, autant chez l'homme que chez l'animal, la présence d'une importante population de porteurs sains est maintenant avérée. Dans ce contexte, la multiplication des causes d'immunodépression d'origine infectieuse (VIH) ou iatrogène représente un facteur de risque pour la population humaine. C'est pourquoi, la **surveillance des leishmanioses humaine et anormale en France métropolitaine s'impose**. De même dans le **département de la Guyane**, le niveau d'endémie de leishmaniose cutanée (LC), ainsi que l'épidémiologie totalement différente de celle du territoire métropolitain, nécessitent une surveillance régulière. La contamination humaine y résulte de la pénétration en forêt pour des activités professionnelles ou de loisir. *L. guyanensis* y est l'espèce prédominante. *L. braziliensis*, responsable d'une forme grave, avec évolution possible vers une atteinte des muqueuses de la face (LCM) pouvant être mutilante, a tendance à devenir plus prévalente.

Le CNR des Leishmanioses a été créé en 1998 avec pour missions principales de surveiller l'endémie leishmanienne en France (incl. la Guyane), de développer une expertise en diagnostic et en typage dans le domaine, d'informer et conseiller les professionnels à cette pathologie et de collecter les souches de *Leishmania* au sein de sa collection. Sa situation au sein de la zone d'endémie, sa longue expertise dans le domaine, sa collection de plus de 6500 souches de *Leishmania* et ses capacités techniques contribuent à ce que ces missions soient menées à bien. Les leishmanioses ne sont pas en France des maladies à déclaration obligatoire. Pourtant, le CNR des *Leishmania* a réussi à obtenir, depuis sa création en 1998, que les cas de leishmaniose autochtones ou importés, diagnostiqués sur son territoire lui soient signalés, ce qui permet de disposer de statistiques régulières. Le CNR s'est adjoint en 2012 le Laboratoire-Associé de Cayenne (Pr B. Carme) et est entouré de 6 centres collaborateurs en santé humaine et animale dans le domaine. Depuis 2006, une **démarche Qualité** a été entreprise en vue de la certification de la Collection de souches du CNR-L selon la norme NF 96.900. Freinée en 2009-2010 par le déménagement du Laboratoire, la démarche Qualité a été reprise en 2012 et confiée au Dr C. Ravel, MCU-PH, et à L. Talignani, Technicien, afin de coordonner et accélérer le travail en vue de la certification.

Les principales missions du CNR-L ont continué d'être remplies en 2013.

1°) Une large place a été accordée aux missions d' **expertise**.

L'offre d'**expertise diagnostique** s'est stabilisée en 2012 : 339 échantillons ont été reçus pour diagnostic moléculaire de leishmaniose, en provenance de 23 Centres hospitaliers français.

Au Laboratoire-Associé de Cayenne, 409 demandes de recherche de Leishmanies (à partir de frottis et/ou de biopsies) ont été enregistrées, issues du CH de Cayenne, des CH de Kourou et de Saint-Laurent-du-Maroni et des 21 centres et postes de santé disséminés sur le territoire guyanais.

La **Collection de souches** de *Leishmania* reste dynamique. En 2013, 94 souches de *Leishmania* ont été isolées ou reçues, dont 60 d'hôpitaux, centres de soins ou instituts de recherche français, et 34 de centres de soins ou de recherche à l'étranger. Les souches ont été

isolées à partir de contaminations de 17 pays différents, dont 4 pays d'Europe, 5 pays d'Afrique, 6 pays d'Amérique et 2 pays d'Asie (11 souches).

Par ailleurs, 68 souches de *Leishmania* ont été fournies à divers laboratoires et institutions en France et à l'étranger.

Le CNR-L s'emploie à faire vivre et progresser cette Collection, devenue essentielle à de nombreux centres hospitaliers et de recherche. Depuis 2011, un travail d'**enrichissement des renseignements** relatifs aux souches de la Collection a été entrepris par le curateur de la cryobanque (Dr F. Pratlong), un technicien (L. Talignani), et un Assistant-Ingénieur (Y. Balard), de façon rétrospective et selon des critères spécifiques (souches provenant d'un même patient, souches clonées, souches provenant d'expérimentations...). De plus, dans la cadre d'un projet financé par le GIS IBISA, le CNR s'est investi de façon importante dans la mise en place d'un outil de gestion des échantillons commun à plusieurs CRB microbiologiques.

L'activité d'**identification de souches** a continué d'être importante. En 2012, 99 identifications moléculaires ont été réalisées, pour 9 espèces de *Leishmania* identifiées. La prévalence de *L. major* (33 %), cas importés d'Afrique du Nord, reste forte. *L. infantum*, espèce du sud de la France et du Bassin Méditerranéen, reste bien représentée (28 %). Au Laboratoire-Associé de Cayenne, une identification d'espèce a été réalisée sur 92 échantillons (66% des cas, mais avec un taux de succès croissant): ces données montrent toujours l'espèce *L. guyanensis* comme prédominante (84% des cas) mais *L. braziliensis* continue lentement à augmenter.

Par ailleurs, 82 identifications biochimiques (technique de référence pour l'O.M.S., réservée à des projets précis en épidémiologie) ont été réalisées en 2013.

2°) Les activités de **surveillance** continuent de constituer une grosse activité du CNRL. Le nombre de déclarations de cas parvenues au CNR-L est tout à fait stable par rapport à 2012. Durant l'année 2013, 249 cas ont été déclarés, dont 21 cas de leishmaniose viscérale, 227 de leishmaniose cutanée et 1 cas de leishmaniose cutanéomuqueuse; 95 cas provenaient de structures de santé de France métropolitaine, 14 des Services de Santé des Armées et 138 du Laboratoire Associé au CNRL à Cayenne. Tous les cas autochtones de LV provenaient de départements du Sud de la France situés dans la zone d'endémie leishmanienne connue; 5 sur 11 concernaient des patients immuno-déprimés. Le nombre de cas de leishmaniose cutanée contractés dans des pays du Maghreb est remonté à son niveau de 2011. En ce qui concerne les contaminations en Guyane, les cas sont légèrement inférieurs à la moyenne des 7 dernières années. Les données reflètent l'évolution de cette pathologie présente dans des populations particulières (orpailleurs, patients de Centres de santé, militaires).

3°) La **collaboration avec les structures de santé animale** (essentiellement le Laboratoire de Santé Animale de l'ANSES, Drs M. Kasbari et P. Boireau) s'est poursuivie. Dans le contexte actuel d'avancée de la leishmaniose canine rapportée sur des positions de plus en plus septentrionales et dans un contexte plus général d'émergence de maladies vectorielles animales, la surveillance des leishmanioses animales demeure primordiale, tant pour la santé animale que pour la santé publique. Les travaux importants menés actuellement sur l'espèce nouvelle *Leishmania siamensis* rapportée récemment chez l'animal en Europe et chez l'homme en Thaïlande, mais probablement présente chez l'animal bien avant d'atteindre l'homme, ainsi que la mise en évidence de l'existence à bas bruit d'une transmission non vectorielle, transplacentaire et vénérienne, de la leishmaniose canine permettant d'expliquer en France l'apparition de foyers "ectopiques" (en dehors de la zone d'endémie) de la maladie, en ont été une bonne illustration au cours de cette année 2013.

4°) En matière de **formation**, le CNR-L continue d'attirer des stagiaires en quête de formation sur les leishmanioses. Le CNRL a également poursuivi l'activité de conseil thérapeutique téléphonique destinée aux médecins. Ce conseil thérapeutique est basé sur une collaboration entre le CNRL et les Drs. Pierre Buffet (AP-HP, Pitié-Salpêtrière) et Gloria Morizot (Institut Pasteur, Paris). En 2013, 52 conseils thérapeutiques ont été donnés par téléphone. Le

CNR donne également de nombreux conseils en matière de diagnostic moléculaire ou d'interprétation des données de typage.

5°) Enfin, le CNR-L participe à de nombreux projets de **recherche**, en collaboration avec des équipes françaises (en particulier avec les Centres collaborateurs des CHU de Marseille et Nice) ou étrangères.

Le CNR participe aussi au projet européen EDENext (*Biology and control of vector-borne infections in Europe*), financé dans le cadre du programme européen FP7. Ses objectifs sont de comprendre les processus biologiques et éco-épidémiologiques menant à l'établissement, au maintien et à l'extension des maladies transmises par vecteurs, dont les leishmanioses; à moyen terme, il vise à mettre en place de meilleurs outils de surveillance et de prévention de ces maladies. Notons également un projet avec la Tunisie, un autre avec l'UMR 5086 à Lyon, un travail épidémiologique avec l'Université d'Oxford, des projets de génomique avec le N.I.H. aux Etats-Unis et l'Université de Lausanne, des travaux en lien avec les Centres collaborateurs (Marseille et Nice, l'ANSES, l'Université de Reims), ainsi qu'avec d'autres équipes à l'étranger... Le Laboratoire Associé de Cayenne contribue également au développement des thématiques de recherche locales et nationales du fait de sa capacité à isoler et mettre à disposition des souches pouvant présenter un intérêt certain dans le cadre de recherches dans les domaines cliniques, thérapeutiques et physiopathologiques; notons en particulier un projet en collaboration avec l'Université de Lausanne portant sur les RNA Leishmania virus qui ont été montrés comme jouant un rôle dans la pathogénicité des espèces présentes en Guyane; le projet vise à évaluer leur prévalence chez *L. guyanensis* et déterminer leur diversité génétique.

6°) L'ensemble de ces activités a fait l'objet de **publications et de communications** à congrès : 1 publication au niveau national et 13 publications dans des revues internationales (à comité de lecture), ainsi que 13 communications dans des congrès et réunions scientifiques, nationaux ou internationaux.

1. MISSION ET ORGANISATION DU CNR

1.1. Rappel des missions et objectifs du CNR

Cf. ANNEXES

1.2. Organisation actuelle du CNR (depuis le 1^{er} janvier 2012)

Cf. ANNEXES

1.3. Description de l'équipe : personnels dévolus dans les activités

Cf. ANNEXES

1.4. Locaux et équipements (CNR et laboratoires associés):

Cf. ANNEXES

1.5. Description de la démarche Qualité du laboratoire (actualisation)

1.5.1. CNR Montpellier

Une visite d'évaluation a été effectuée les 4-5 février 2013 par une consultante-qualité désignée par l'INSERM (Anne-Catherine EDELMAN) dans le cadre du projet Investissements d'Avenir "BIOBANQUES". L'évaluation a montré une majorité de points conformes aux exigences de la norme, ainsi qu'un certain nombre de points critiques qui devront être corrigés.

Un gros travail a été effectué à la suite de ce premier audit et selon ses recommandations. Les bases du Système de Management de la Qualité (SMQ) ont été renforcées :

- Création d'une planification des actions qualité et de suivi des indicateurs,
- Le comité scientifique a été désigné,
- L'ensemble de la documentation est désormais maîtrisé,
- D'importants moyens humains ont été consacrés à la validation de méthodes internes qui sont maintenant tracées,
- Des outils informatiques de gestion des non-conformités et d'évaluation des fournisseurs et prestataires de services ont également été mis en place.

Des réunions mensuelles de suivi de la mise en place de la Qualité ont permis de maintenir une dynamique tout au long de l'année. La mise en place du Système de Management de la Qualité est devenu un projet fédérateur au sein du CNRL. Ces efforts se poursuivront en 2014.

1.5.2. Laboratoire Associé de Cayenne

En conformité avec les exigences nationales, le L-A est engagé dans le processus de mise en place de la démarche Qualité nécessaire à l'accréditation des laboratoires de biologie médicale (certification ISO 15189) dans chacun de ses secteurs. Cette exigence est indispensable au L-A du fait de son implication dans la démarche diagnostique et thérapeutique auprès des praticiens de Guyane Française.

L'ensemble des examens réalisés au L-A devra répondre aux exigences de l'accréditation en 2020 (analyse de sensibilité/spécificité, de répétabilité et de reproductibilité). Une aide nous sera apportée par ANOFEL, l'association française des enseignants de Parasitologie-Mycologie, de même que par le CNR-L. Il s'agit d'une aide technique avec

- mise à disposition sur un site internet dédié de documents référents,
- conseils personnalisés par Mme Christine Roques, PH évaluatrice COFRAC travaillant dans le laboratoire HU de Parasitologie-mycologie à Toulouse,
- conseils personnalisés auprès des référents qualité du CNR à Montpellier.

Les contrôles de qualité des identifications réalisées chaque année montrent une parfaite concordance avec les résultats obtenus au Laboratoire coordonnateur du CNR (Montpellier).

2. ACTIVITES D'EXPERTISE

2.1. Capacités techniques du CNR

2.1.1. Liste des techniques de référence

Cf. ANNEXES

2.1.1.1. Diagnostic

2.1.1.2. Typage biochimique : Identification iso-enzymatique

2.1.1.3. Typage moléculaire

2.1.1.4. Autres techniques de typage utilisées

2.1.1.5. Etude in vitro de la chimiosensibilité des souches de *Leishmania*

2.1.2. Collections de matériels biologiques

2.1.2.1. Collection de souches de *Leishmania* (Centre de Ressources Biologiques)

Cf. ANNEXES

2.1.2.2. Application informatique de gestion de la collection du CNR

En 2013, la Collection a effectué le basculement vers une nouvelle application de gestion appelée BRC-LIMS. Ce projet initié par l'institut Pasteur et soutenu par le GIS IBiSA (Infrastructures en Biologie Santé et Agronomie) a été testé et validé durant plusieurs mois avant de remplacer totalement l'ancienne application ModulBio. Toutes les données présentes sur l'ancienne base ont été reprises. Cette application présente toutes les garanties de sécurité avec davantage de souplesse et de possibilités.

Elle s'articule essentiellement autour d'une base de données sécurisée utilisant le SGBD Posgresql et fonctionnant sur un serveur DELL avec contrôleur de stockage RAID 1, assurant la protection des données sur deux disques durs en miroir (Mirroring) et un système d'exploitation LINUX. Toutes les 24h, une sauvegarde en back-up est réalisée sur un serveur NAS situé dans une autre pièce.

L'accès à la base, contrôlé par login et mot de passe, se fait directement à chaque stade du traitement avec un navigateur en intranet sur différents postes Windows répartis dans le laboratoire. Cette communication utilisant des clients légers (ordinateur de faible puissance) et aucune application spécifique est possible grâce à l'utilisation d'une interface originale en langage JAVA.

2.1.2.3. Conditions de mise à disposition de la collection

2.1.2.4. Collection d'ADN de *Leishmania*

2. ACTIVITES D'EXPERTISE EN 2013

2.1. Évolutions des techniques au cours de l'année 2013

2.2. Activités d'expertise de l'année 2013

2.2.1. Expertise diagnostique

Les diagnostics spécialisés ci-dessous ont été effectués sur des prélèvements reçus de divers centres hospitaliers ou structures de soins français.

- Diagnostic moléculaire

Au Centre Coordonnateur de Montpellier, en 2013, 339 diagnostics moléculaires ont été réalisés dont 279 pour des formes viscérales et 60 pour des formes cutanées, soit une légère baisse par rapport à 2012. Vingt-trois (23) Centres Hospitaliers français ont envoyé du matériel biologique, ce dernier pouvant s'agir de souches (n=54), d'ADN (n=25), de prélèvements cutanés (n=17), ou de lames (n=3). A noter le nombre croissant de Centres qui adressent des ADN extraits de prélèvements biologiques pour lesquels ils sollicitent l'expertise du CNR-L en matière de diagnostic et surtout d'identification moléculaire des différentes espèces. 29% des prélèvements (99) se sont avérés positifs, dont près des deux-tiers pour des formes cutanées.

Au Laboratoire-Associé de Cayenne, en 2013, 409 échantillons (à partir de frottis et/ou de biopsies) ont été enregistrés, issus du CH de Cayenne, des CH de Kourou et de Saint-Laurent-du-Maroni, et des 21 centres et postes de santé disséminés sur le territoire guyanais : 39 ont été reçus pour suspicion de leishmaniose viscérale et 370 pour leishmaniose cutanée. Ces derniers correspondent à 140 patients avec essentiellement des leishmanioses cutanées (1 leishmaniose diffuse avec atteinte muqueuse). Le seul examen direct n'aurait dépisté que 86 cas, soit 61.4% des 140 positifs, contre 72% pour le diagnostic moléculaire. Le nombre de prélèvements total est en baisse légère par rapport à l'année précédente (420), les variations pouvant être fonction certes de la sensibilisation des professionnels de soins à la recherche de leishmaniose en Guyane française mais aussi des variations saisonnières.

Tableau I. Fréquence de réalisation des techniques au L-A de Cayenne et leurs résultats dans le cadre de la leishmaniose cutanée ou cutanéomuqueuse

	Direct	Culture	PCR	Réalisés	Positifs toutes techniques
	Pos	N/D	N/D	41	41
	Neg	N/D	N/D	38	
	Neg	Neg	Neg	30	
	Pos	Pos	Pos	27	27
	N/D	Neg	Neg	23	
	N/D	Conta	Pos	15	15
	Pos	Conta	Pos	14	14
	Neg	Conta	Neg	13	
	N/D	Neg	Pos	13	13
	N/D	Pos	Pos	11	11
	Neg	Pos	Pos	9	9
	N/D	N/D	Neg	9	
	N/D	Conta	Neg	8	
	N/D	Conta	Neg	8	
	Neg	Conta	Pos	7	7
	Neg	Neg	Pos	1	1
	Pos	Neg	Pos	1	1
	Neg	N/D	Neg	1	
	N/D	N/D	Pos	1	1
	Neg	Neg	N/D	1	
	N/D	Neg	N/D	1	
Réalisés	197	173	182	272	
Interprétables	161 [°]	116 ^{°°}	182		
Positifs	86	47	101		140

[°] Frottis avec assez de cellules pour être véritablement interprétable

^{°°} Nombre important de cultures contaminées (provenant surtout des centres de santé)

- Participation à l'évaluation et à l'amélioration du diagnostic moléculaire des leishmanioses

Dans le cadre de la mise en place d'un Contrôle de Qualité inter-laboratoires (CIL) pour le diagnostic PCR des Leishmanioses, une étude comparative sur la quantification de la charge parasitaire sur le sang a été initiée en 2011 entre les Laboratoires de Montpellier, Marseille et Nice, laboratoires du Sud de la France qui reçoivent le plus de demandes de diagnostic de leishmanioses. La sensibilité de la technique actuelle de diagnostic est très bonne (en pratique inférieure à 1 parasite/ 5 mL de sang) et il ne semble pas qu'elle puisse être beaucoup améliorée. Cependant, différentes étapes (extraction d'ADN, définition de calibrateurs, etc.) restent à comparer et à uniformiser. Ce CIL a été étendu à une dizaine d'autres centres français en 2012 et 2013.

- Diagnostic immunologique

En 2013, 245 sérologies leishmaniennes ont été réalisées : soit une activité proche des trois années précédentes (275, 271, 244 pour 2010, 2011, 2012 respectivement).

2.2.2. Réception de souches de *Leishmania*

• Origine des souches selon le centre de soins

En 2013, **94 souches** de *Leishmania* ont été isolées ou reçues, dont **60** d'hôpitaux, centres de soins ou instituts de recherche français, et **34** de centres de soins ou de recherche à l'étranger. Le détail de l'origine des souches par centre d'isolement en 2013 figure sur le tableau II.

Tableau II.- Origine selon le centre de soins, des 94 souches de *Leishmania* traitées par le CNR-L en 2013.

France (60 souches)				Etranger (34 souches)		
Etablissements	Nb	Etablissements	Nb	Pays	Etablissements	Nb
AP – HP Pitié Salpêtrière	10	CHU Rennes	5	ALGÉRIE	Institut Pasteur d'Alger – Algérie	2
APHP BICHAT Claude Bernard	6	CHU Rouen	3	PORTUGAL	Universidade Nove de Lisboa-Medicina Tropical - Lisbonne	12
APHP COCHIN	4	CHU Strasbourg	3	TUNISIE	Faculté de Pharmacie de Monastir - Tunisie	2
APHP Saint-Antoine	1	ANSES – Maisons Alfort	5	TURQUIE	Department of Parasitology, Faculty of Medicine - Ege University, BORNOVA, IZMIR	18
CHU Croix Rousse - Lyon	2	Faculté de Pharmacie de Lyon	6			
CHU Montpellier	2	CH Avicenne – Bobigny	2			
CHU Nice	10	HIA Legouest – Metz Armées	1			

• Origine géographique des souches par pays d'isolement

L'origine géographique des souches reçues en 2013 figure dans le tableau III selon le pays où la contamination a eu lieu : les souches ont été obtenues de 17 pays différents, dont 4 pays d'Europe (19 souches), 5 pays d'Afrique (39 souches), 6 pays d'Amérique (10 souches) et 2 pays d'Asie (21 souches). Une incertitude pour quelques souches : 3 d'origine africaine, 1 d'Europe du Sud sans précision du pays et 5 d'origine géographique inconnue.

Tableau III.- Origine géographique par pays d'isolement des 94 souches traitées par le CNR-L en 2013.

Continents	Pays	Nb	Continents	Pays	Nb
Afrique (n = 39)	Algérie	5	Asie (n = 21)	Thaïlande	3
	Mauritanie	1		Turquie	18
	Maroc	5			
	Sénégal	5			
	Tunisie	20			
	Origine inconnue	3			
Amérique (n = 10)	Bolivie	1	Europe (n = 19)	Espagne	1
	Costa Rica	2		France	4
	Equateur	1		Portugal	12
	Guadeloupe	1		Europe du Sud	1
	Guyane française	3		Géorgie	1
	Pérou	2			
Origine géographique inconnue	5				

● **Isolement de souches au LA de Guyane Française.**

Les souches obtenues en culture au LHUPM sont conservées en azote liquide. En 2013, 47 souches ont été isolées. Elles seront adressées à Montpellier en 2014 par envois groupés. Par ailleurs, l'ADN est conservé pour la totalité des cas identifiés par PCR : 101 ADN ont été extraits en 2013.

Certaines souches présentant un intérêt épidémiologique, clinique ou thérapeutique seront conservées sur le site du LA-CNR-L et mises à disposition dans le cadre de travaux de recherche de l'équipe EA3593 (« Epidémiologie des Parasitoses Tropicales »).

A noter qu'un grand nombre de cultures sont ininterprétables car contaminées par des levures, bactéries ou champignons filamenteux. Ceci pourrait faire l'objet d'une aide technique du Centre Coordonnateur.

2.2.3. Distribution de souches de *Leishmania*

En 2013, **68 souches** de *Leishmania* ont été fournies à divers laboratoires et institutions en France et à l'étranger, dont la liste figure ci-dessous :

- 13 souches en France :
 - 12 souches à l'Hôpital Avicenne de Bobigny,
 - 1 souche à l'Hôpital de Fort-de-France,
- 55 souches à l'étranger :
 - 20 souches à l'Université de Lausanne – Suisse,
 - 19 souches à l'Université de Bergen – Norvège,
 - 15 souches au Center of Diseases Control d'Atlanta – Etats Unis,
 - 1 souche à l'Université de Ténérife – Espagne.

A noter, par ailleurs, que **134 souches** ont été décongelées et recongelées dans le cadre de l'entretien de la collection de souches du CNR-L.

2.2.4. Typage biochimique (isoenzymatique)

Le typage biochimique iso-enzymatique, qui est toujours une technique de référence reconnue par la communauté scientifique et par l'OMS, est réservé essentiellement aux enquêtes et études épidémiologiques. Cette technique permet également de placer une espèce dans la classification existante lorsqu'une *Leishmania* nouvelle est mise en évidence.

En 2013, le typage enzymatique a été réservé à un travail d'identification prospectif et rétrospectif de la collection portant sur **82 souches** à intérêt épidémiologique ou taxonomique (caractérisation de zymodèmes nouveaux).

Le détail des identifications des souches figure sur le tableau IV.

Tableau IV.- Détails des identifications enzymatiques de 82 souches réalisées en 2013.

Espèces	Zymodèmes	Nombre
<i>L. infantum</i> (n= 37)	MON-1	29
	MON-24	2
	MON-30	1
	MON-98	4
	MON-319	1
<i>L. donovani</i> (n= 2)	MON-3	1
	MON-18	1
<i>L. major</i> (n= 4)	MON-25	3
	MON-103	1
<i>L. tropica</i> (n= 5)	MON-7	1
	MON-61	2
	MON-109	1
	MON-315	1
<i>L. killicki</i> (n= 9)	MON-8	3
	MON-301	6
<i>L. braziliensis</i> (n= 21)	MON-43	2
	MON-44	1
	MON-129	8
	MON-158	7
	MON-218	1
	MON-140	1
	MON-221	1
<i>L. lainsoni</i> (n= 3)	MON-320	1
	zymodèmes nouveaux	2
<i>L. amazonensis</i> (n= 1)	MON-321	1
TOTAL		82

2.2.5. Identification moléculaire

Au Laboratoire Coordonnateur, en 2013, 99 identifications moléculaires ont été réalisées et ont mis en évidence neuf espèces différentes de *Leishmania*. Ont été identifiées : de l'Ancien Monde, *L. major* (n=33), *L. infantum* (n=28) et *L. tropica* (n=8); et du Nouveau Monde, *L. braziliensis* (n=9), *L. guyanensis* (n=7), *L. naiffi* (n=2), *L. martiniquensis* (n=2), *L.*

amazonensis (n=1) et *L. lainsoni* (n=1). A noter que *L. martiniquensis* est une espèce de découverte relativement récente (Noyes H. et al. 2002, Parasitology) et tout récemment nommée (Pratlong F. et al. Parasite, 2014), divergente des autres espèces de *Leishmania* et endémique semble-t-il à la Martinique, dont plusieurs cas ont été diagnostiqués régulièrement depuis une dizaine d'années.

Au L-A de Cayenne, pour les 101 biopsies fournies et positives en PCR, 92 identifications moléculaires ont été réalisées, soit 91% de succès d'identification.

2.2.6. Maintien et dynamique de la Collection de souches du CNR

La Collection internationale de souches de *Leishmania* du CNR-L est unique au monde, avec plus de 6600 souches originaires de 67 pays, représentant toutes les espèces connues, et isolées sur une grande variété d'hôtes et de vecteurs dans des foyers et des situations épidémiologiques très divers. Son maintien fait appel à une logistique lourde, à une rigueur éprouvée et à une collaboration sans failles avec de nombreuses équipes nationales et internationales. Ces collaborations avec de nombreuses équipes nationales et internationales sont à l'origine du rayonnement de notre structure qui a été évalué dans l'article suivant paru en 2013 :

Gregorio González-Alcaide, Charles Huamaní, Jinseo Park and José Manuel Ramos. Evolution of coauthorship networks: worldwide scientific production on leishmaniasis *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* **46**(6):719-727, Nov-Dec, **2013**

Le CNR-L s'emploie à faire vivre et progresser cette Collection, devenue essentielle à de nombreux centres hospitaliers et de recherche.

La richesse des renseignements relatifs à chaque souche nécessite un travail de contrôle et de synthèse pour faire apparaître certains groupes ou catégories de souches et rendre ainsi plus accessible la Collection en fonction de ce qu'on recherche.

Le curateur de la cryobanque (Dr Francine Pratlong), connaissant et pratiquant cette collection depuis sa création, a entrepris avec un technicien, Loïc Talignani, et un Assistant-Ingénieur, Yves Balard, un travail rétrospectif permettant d'identifier certaines souches particulières selon des critères précis et habituellement non renseignés.

- Sur les 6600 souches de la collection, un **enrichissement progressif du catalogue** des souches en ligne sur le site Internet du Laboratoire a été réalisé à partir de la collection. Cela représente un total de 500 souches pour l'année 2013, avec, avant la mise sur le site, un contrôle rigoureux de tous les renseignements relatifs à ces souches. Ceci porte à près de **1300** le nombre de souches sur le catalogue.

- **Enrichissement des données** associées aux souches, à partir de travaux réalisés avec des souches de la collection (travaux de thèse ou articles scientifiques), comme par exemple :

- la sensibilité du parasite aux anti-leishmaniens,
- la virulence et l'infectivité des souches,
- la ré-émergence de foyers de leishmaniose dans le Bassin Méditerranéen,
- la découverte d'un nouveau réservoir de leishmaniose.

Ces données sont intégrées à la fiche électronique de chaque souche concernée.

- Les souches reçues au CNR-L en plusieurs exemplaires et conservées ont fait l'objet d'un codage spécifique du code OMS.

- Enfin, un travail de plus grande ampleur incluant les **références bibliographiques** des articles ayant utilisé et mentionnant telle ou telle souche de la collection a été poursuivi.

L'ensemble de ces travaux permet à la Collection de **proposer aux équipes de recherche des souches bien documentées**, indispensables pour les travaux de recherche. Ceci constitue une valorisation supplémentaire importante de la Collection.

2.3. Evolution des tendances

Les échantillons reçus au CNR-L pour diagnostic moléculaire sont en légère diminution.

Le nombre de **souches reçues** au CNR-L a baissé dans les trois dernières années, après une période d'une dizaine d'années aux environs de 180 par an. Les chiffres de 2013 sont nettement en diminution par rapport aux deux années précédentes (131 en 2011 et 152 en 2012). Ceci pourrait être dû à la diminution des campagnes épidémiologiques, autant en France que dans d'autres pays endémiques.

De même, le chiffre de **souches distribuées** en 2013 a diminué de façon très importante (68 contre 379 en 2012). Ce chiffre est à mettre en rapport avec la fin de thèses de doctorat réalisées en France, portant sur les leishmanioses et ayant nécessité une grande quantité de souches. Le nombre de souches envoyées à l'étranger est resté stable. En ce qui concerne **l'identification de souches**, si l'activité de typage moléculaire est restée stable, le typage iso-enzymatique, technique de référence mais réservée à certains taxons (*L. infantum*, *L. major*) ou à des études épidémiologiques précises, a diminué par rapport à 2012, pour revenir au niveau des années antérieures. L'activité de typage moléculaire a nettement augmenté au L-A de Cayenne, avec surtout un taux de succès en forte augmentation si l'on considère les cas parasitologiquement positifs. Si l'on considère l'ensemble des cas positifs (Tableau V ci-dessous), le taux d'identification est à peu près stable : en effet, en 2013, de nombreux diagnostics ont été réalisés sur frottis seul (44 contre 11 en 2012), sans envoi de biopsies pour culture ou PCR

Tableau V.- Evolution des cas positifs au et des identifications d'espèce au L-A de Cayenne.

	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Nb de cas toutes techniques confondues	96	129	114	119	160	119	142	140
Nb d'identifications	45 (46.9%)	82 (63.6%)	80 (70.2%)	93 (78.2%)	144 (90.0%)	96 (80.7%)	113 (79.6%)	92 (65.7%)

3. ACTIVITES DE SURVEILLANCE

La surveillance a pour but d'évaluer les foyers autochtones d'endémie leishmanienne, leur dynamique et d'essayer d'anticiper les implications de cette affection au plan de la santé publique, et tout particulièrement au cours de l'infection VIH et chez les sujets subissant des transplantations d'organes. Elle vise également à surveiller les cas d'importation et détecter d'éventuelles augmentations d'incidence dans des foyers endémiques à l'étranger, permettant ainsi d'actualiser les recommandations aux voyageurs dans ces zones d'endémie.

Les leishmanioses ne sont pas en France des maladies à déclaration obligatoire.

Le recensement annuel des cas de leishmanioses autochtones et importées diagnostiqués en France a été instauré par le CNR-L en 1998, 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, ainsi que par les Services de Santé des Armées. Ce recensement a porté initialement sur la France métropolitaine, puis a été étendu à la Guyane en 2003. Il continue à être effectué grâce à une fiche de déclaration de cas, téléchargeable sur le site du CNR-L.

La surveillance des leishmanioses s'effectue davantage à partir de ces déclarations de cas que de l'isolement des souches, ce dernier étant techniquement difficile et donc aléatoire. A l'inverse, les isolements et adressages de souches au CNR sont, autant que possible, suivis d'une enquête visant à faire établir une déclaration de cas si elle n'a pas été faite.

3.1. Surveillance de l'évolution et des caractéristiques de l'infection

Le nombre de déclarations de cas parvenues au CNR-L est tout à fait stable par rapport à 2012

3.1.1. Réseau de partenaires

*** Laboratoire coordonnateur (Montpellier) :**

La liste des centres ayant déclaré au CNR-L des cas de leishmanioses en 2013 figure ci-dessous.

Pour les CHU : les Laboratoires de Parasitologie-Mycologie des CHU suivants : Angers (49), Amiens (80), Caen (14), Dijon (21), Grenoble (38), Lille (59), Lyon (69), Marseille (13), Montpellier (34), Nice (06), Nîmes (30), Rennes (35), Rouen (76), Strasbourg (68), Tours (37), divers établissements de l'AP-HP à Paris (75) (Cochin-St Vincent de Paul, St-Louis, Pitié-Salpêtrière, Saint-Antoine, Bichat).

Pour les CH et CHG : CH Avicenne (93), CH Avignon (83), CH Ales (30), CH Cayenne (973), CH Perpignan (66), CH Tourcoing (59), CH Chalon sur Saône (71)

Pour les Hôpitaux d'Instruction des Armées : HIA Laveran à Marseille (13), HIA Bégin à Saint Mandé (94), HIA Legouest Metz (54), HIA Sainte Anne Toulon (83), HIA Clermont Tonnerre Brest (29)

Pour le Service de Santé des Armées : Département d'Epidémiologie et Santé publique de l'Institut de Médecine tropicale du Pharo, Marseille (13).

La couverture du réseau reste donc nationale et stable.

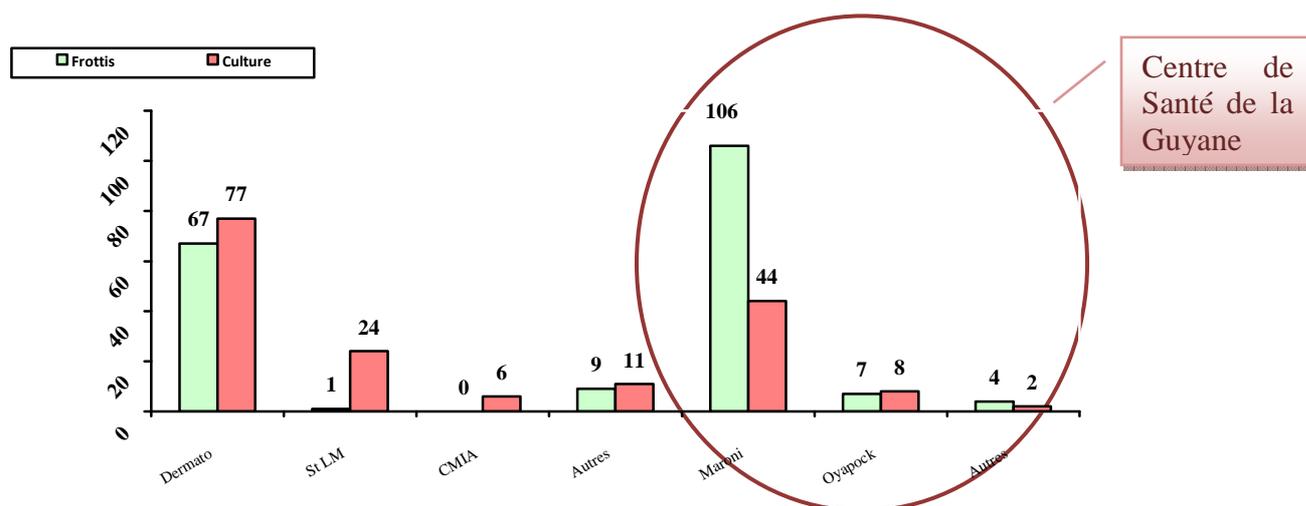
*** Laboratoire-Associé (Cayenne) :**

Le réseau de partenaires mis en place par le L-A permet d'apprécier de façon pratiquement exhaustive les cas diagnostiqués au CH de Cayenne, dans les Centres et Postes de Santé et sur le reste du territoire.

Les prélèvements, accompagnés de données cliniques et épidémiologiques, sont adressés par les divers laboratoires et centres de soins de la Guyane comme l'Institut Pasteur de Cayenne, le laboratoire du CH de Saint-Laurent-Du-Maroni, le Centre de Santé des Armées (CMIA de Cayenne, Kourou, Saint-Laurent-Du-Maroni) et les Centres de Santé de la Guyane.

A noter que le nombre de fiches de renseignements cliniques réceptionnées (fiches de données) s'élève à 79, ce qui reste insuffisant et devra être amélioré.

Figure 1.- Réseau de partenaires et type d'examen envoyés au L-A de Cayenne.

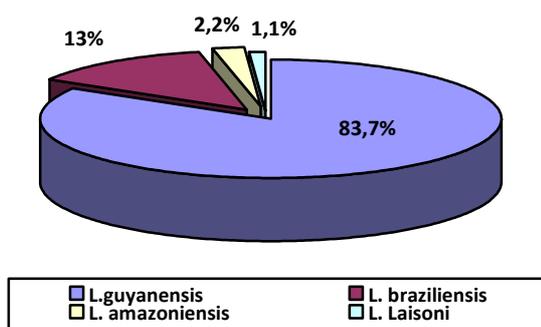


3.1.2. Analyse de la distribution des différents types d'agents caractérisés en fonction des critères pertinents (âge, sexe, géographie) et analyse des tendances

En France métropolitaine, la distribution des cas, aussi bien autochtones qu'importés, ainsi que des agents pathogène correspondants, reste remarquablement stable par rapport à 2012.

Il en est de même en Guyane Française. Si *L. guyanensis* reste l'espèce prépondérante (83,7% des cas), la proportion d'infection à *L. braziliensis* reste élevée depuis 3 ans (autour de 13%).

Figure 2.- Répartition des différentes espèces de Leishmania isolées en 2013 au L-A de Cayenne.



A noter un cluster de cas (7 cas) à *L. braziliensis* sur un groupe d'une vingtaine de scientifiques lors d'une expédition à Saül fin octobre. Sur les 7, un seul a été diagnostiqué en Guyane, 3 à Toulouse, 1 à Bordeaux, 1 aux USA et 1 autre en Australie.

Cf. également ci-dessous (§ 3.1.3).

3.1.3. Analyse de la distribution des cas

En 2013, **un total de 249 cas** a été déclaré au CNR-L : 111 fiches de déclaration de cas ont été reçues directement au CNR-L, provenant de structures de France métropolitaine (95 déclarations) et des Services de Santé des armées (14 cas). Le L-A de Cayenne nous a adressé 138 déclarations de cas de LC diagnostiqués en Guyane Française.

Ces chiffres sont susceptibles d'être légèrement augmentés ou modifiés par la suite, certaines déclarations étant encore en suspens, et d'autres déclarations pouvant nous parvenir en retard.

La répartition de ces cas pour l'année 2013 se fait de la façon suivante toutes structures confondues :

- 21 cas de leishmanioses viscérales, dont 2 cas de rechute
- 227 cas de leishmanioses cutanées.
- 1 cas de leishmaniose cutanéomuqueuse de la région d'Avignon.

Le nombre de cas de **leishmaniose viscérale (LV)** est à peu près stable par rapport aux dernières années (moyenne du nombre de cas par an entre 2006 et 2012 : 24.6). Sur les 21 cas de leishmaniose viscérale, 11 patients étaient immunodéprimés, dont 8 infectés par le VIH (pour 2 cas, il s'agissait d'une rechute chez des patients VIH). On note que 18 patients sont de sexe féminin et 3 de sexe masculin et que seulement 4 cas sont des enfants de moins de 5 ans; 6 patients avaient entre 15 et 23 ans, et les autres plus de 29 ans. Ainsi, en France, la LV continue de toucher essentiellement des patients adultes qui sont relativement jeunes en 2013 (moyenne d'âge de 35.7 ans [1-81 ans]).

Les cas autochtones de LV (8 cas certains et 3 cas où la contamination pourrait avoir eu lieu dans un autre pays), proviennent de départements du Sud de la France situés dans la zone d'endémie leishmanienne connue : 1 des Alpes-Maritimes, 1 de Corse, 2 du Gard ou de l'Ardèche, 1 des Bouches-du-Rhône, 2 des Pyrénées-Orientales, et les autres du Sud de la France sans précision. Parmi ces 11 cas, 5 patients avaient des facteurs d'immuno-dépression (dont 3 infectés par le VIH).

Le nombre de cas de leishmaniose cutanée (LC) reste relativement stable. Le nombre de cas de contamination ayant eu lieu dans les pays du Maghreb est revenu à son niveau de 2011 (35 en 2011). En ce qui concerne les contaminations en Guyane (cas du L-A + cas diagnostiqués en métropole: 138 + 22 = 160), ils sont légèrement inférieurs à la moyenne des 7 dernières années (195.8 cas/an [160-288] pour la période 2007-2013).

Pour l'année 2013, 1 seul cas de leishmaniose muqueuse autochtone à *L. infantum* a été rapporté.

Tableau VI.- Lieux de contamination pour l'ensemble des cas de leishmanioses déclarés au CNR-L en 2013.

Forme clinique	Origine de la contamination						Total
	France métropolitaine	Antilles	Guyane	Maghreb (Algérie, Tunisie, Maroc)	Autre ou plusieurs pays possibles	Indéterminée ou non renseignée	
L. viscérale	8	0	0	6	6	1	21
L. cutanée	4	1	160	32	28	2	227
L. muqueuse	1	0	0	0	0	0	1
Total	13	1	160	38	34	3	249

3.1.4. Analyse de la situation de la Guyane Française

Durant l'année 2013 :

- le Laboratoire-Associé de Cayenne a diagnostiqué 138 cas de LC (+ 2 cas qui à ce jour n'ont pas fait l'objet d'une déclaration). Parmi les cas déclarés pour lesquels le lieu de contamination était renseigné, on retrouve 64 cas de Guyane et 74 cas pour lesquels le lieu n'a pas pu être déterminé avec précision. Par ailleurs, aucun cas de LV n'a été répertorié cette année. A noter également en Guyane Française, un cas de forme disséminée avec atteinte muqueuse chez un patient VIH+ stade SIDA.
- les Hôpitaux d'instruction des Armées (HIA Bégin, Lavéran, Legouest et Sainte Anne) et le Service de Santé des Armées (Département d'Epidémiologie et Santé publique de l'Institut de Médecine tropicale du Pharo) ont déclarés 12 cas de LC avec une contamination en Guyane et aucun cas de LV.
- de plus, parmi les déclarations envoyées par les diverses structures sanitaires métropolitaines, 10 concernaient des cas de LC avec une contamination en Guyane.

Ainsi, en 2013, on retrouve un total de 86 cas de LC déclarés contractés de façon certaine en Guyane toutes structures confondues. Cependant, un nombre élevé de contaminations dont l'origine est non déterminée mais sud-américaine et probablement guyanaise porterait ce chiffre à 160 cas. Le détail figure sur le tableau ci-dessous.

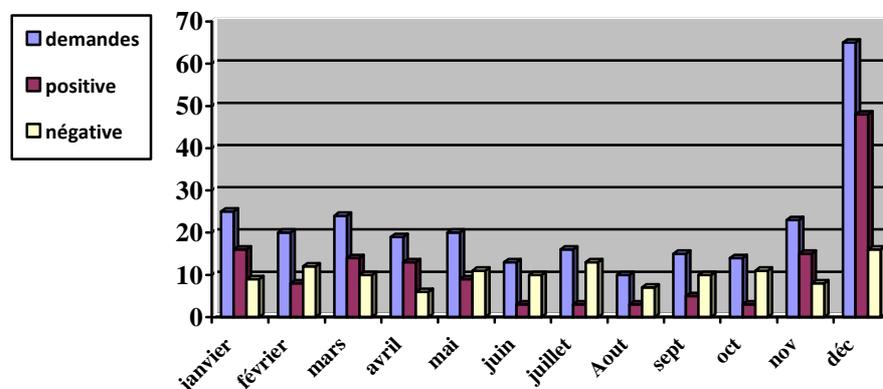
Tableau VII. - Cas de leishmaniose cutanée contractés en Guyane en 2013, en fonction de la source de déclaration.

Déclarations	Nb total	Sexe		Statut		
		H	F	militaire	civil	inconnu
France métropolitaine	10	10	0			
CH Cayenne	64	53	11	3	29	32
HIA et SS des Armées	12	12	0	12	0	0
<i>Total</i>	<i>86</i>	<i>75</i>	<i>11</i>	<i>15</i>	<i>29</i>	<i>32</i>
<i>Cas déclarés par Cayenne mais lieu de contamination non déterminé</i>	<i>74</i>					
<i>Total</i>	<i>160</i>					

Ainsi avec 160 cas estimés pour 2013, l'**incidence annuelle de la LC en Guyane** serait de 0.6 p.1000 (sur la base de 250.000 habitants), ce qui apparaît plus faible que pour l'année 2012 (0.9 p. 1000) mais peut être expliqué par des sous-déclarations liés à des problématiques spécifiques au territoire guyanais. Les spécificités de la Guyane Française et les difficultés de l'évaluation de l'incidence dans ce territoire ont été rappelées dans le rapport 2012-2013.

Distribution temporelle des cas en Guyane : La répartition sur l'année 2013 des cas de leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses est superposable à celle des années précédentes avec un faible nombre de cas à partir de mai (saison sèche) puis une reprise à compter de novembre (saison des pluies).

Figure 3.- Répartition des cas positifs, négatifs et des demandes de diagnostic au L-A de Cayenne sur l'année 2013.



3.2. Surveillance de la résistance des *Leishmania* aux produits anti-leishmaniens

Cet item est peu applicable aux *Leishmania*, surtout en raison du faible niveau de résistance actuellement observé en France (où les dérivés antimoniés sont peu utilisés). Aucune souche n'a été adressée au CNR-L pour tester la chimiorésistance des parasites en 2013.

3.3. Participation aux réseaux de surveillance

3.3.1. Contribution à la surveillance nationale en interface avec l'InVS

Une réunion a été organisée le 04.06.2013 avec les représentants de la Cellule de l'InVS en Région Languedoc-Roussillon (Cire), Département Coordination des Alertes et des Régions (Amandine Cochet et Cyril Rousseau). L'objectif de la réunion était de faire le point sur les données disponibles concernant la surveillance des cas autochtones de leishmaniose en Languedoc-Roussillon et plus largement dans la zone Sud qui comprend les principaux foyers en métropole.

L'intérêt et les modalités d'actions d'un renforcement du signalement au CNR dans certains territoires, en particulier dans les Pyrénées-Orientales ont été discutés, en particulier

pour les formes cutanées autochtones. Un projet de sensibilisation des dermatologues et des médecins généralistes a été discuté; le signalement pourrait s'accompagner d'une facilitation de l'accès au diagnostic. Les modalités restent encore à définir avec la Cire.

Une autre réunion a eu lieu le 24.10.2013 avec le représentant de l'InVS, le Dr Harold Noel, lors d'une brève visite au CNR-L à Montpellier. Les activités et le bilan du CNR ont été brièvement présentés ainsi que les projets d'avenir. La réalisation d'une nouvelle enquête épidémiologique sur le réservoir canin dans les Cévennes a été encouragée; elle permettrait d'évaluer l'évolution du risque dans la région. En effet, aucune enquête n'a été réalisée depuis 2000, en particulier depuis l'introduction des colliers protégeant des piqûres de phlébotomes et de la mise à disposition du vaccin dans cette population. Par ailleurs, Harold Noel a appuyé le projet d'information aux médecins des Pyrénées-Orientales et l'idée d'une thèse d'exercice sur une enquête auprès des médecins de la région basée sur un questionnaire.

3.3.2. Contribution aux réseaux de surveillance internationaux

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

4. ALERTE

En cas de détection de phénomène anormal concernant une augmentation du nombre de cas, ou l'existence de cas groupés, ou une modification éventuelle des formes cliniques, sur le plan local, Le Laboratoire Coordonnateur, aidé du Laboratoire-Associé, se met en contact avec la CIRE Languedoc-Roussillon, ou avec la CIRE Antilles-Guyane pour la Guyane Française.

Si le phénomène concerne le reste du territoire national, les DOM-TOM ou l'étranger, le CNR contacte également le Département des Maladies Infectieuses de l'InVS. Les informations concernant des événements de même nature survenant dans des pays étrangers, en particulier dans les pays européens limitrophes ou au Maghreb, doivent également être signalées à la DGS et au RNSP.

A la suite des cas groupés observés en 2009-2010, une surveillance des cas provenant du Maghreb a été mise en place au CNR-L. Depuis 2011, aucun phénomène particulier n'a été observé. Les cas importés d'Algérie, Maroc et Tunisie, ainsi que ceux de Guyane Française, font l'objet d'une surveillance particulière : le nombre de cas importés d'Afrique du Nord est remonté à son niveau de 2011 (38 cas); l'endémicité en Guyane Française apparaît en légère baisse par rapport à 2012.

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

5.1. Formation – Enseignements - Stagiaires

5.1.1. Enseignements

Des cours sur les leishmanioses sont régulièrement donnés par les membres des deux Laboratoires dans le cadre d'enseignements du Second et du Troisième Cycle des Etudes Médicales.

En Guyane :

- Diverses formations à différents niveaux du circuit de la prise en charge des leishmanioses sont mises en place: aspects cliniques, épidémiologiques, parasitologiques et thérapeutiques, notamment au cours des DU de Dermatologie Infectieuse et Tropicale (Pr. P. Couppié / UAG) et DU de Pathologie Tropicale et Capacité de Médecine Tropicale (Pr. B. Carne /UAG)
- Il existe aussi une formation pour les prélèvements de lésions cutanées et/ou muqueuses suspectes de leishmaniose pour les médecins affectés dans les Postes et Centres de Santé.
- Des fiches de protocole sont aussi mises à disposition auprès des différents services et systèmes de soins, hospitaliers comme libéraux.

5.2.2. Stagiaires

Le CNR-L continue d'attirer des stagiaires en quête de formation sur les leishmanioses, et, dans les faits, doit en refuser régulièrement.

En 2013, deux stagiaires ont été reçus à Montpellier sur plusieurs périodes de stage.

N.B. Ces chiffres ne prennent pas en compte les autres stagiaires admis au sein du Laboratoire pour des activités autres que celles du CNR-L (Internes, Master 1 et 2, L3, BTS).

A Cayenne, le LHUPM accueille des Internes de spécialités de biologie médicale et des internes de spécialité de DESC de Pathologie Infectieuse et Tropicale. Il veille à les sensibiliser sur la surveillance épidémiologique et les outils diagnostics.

Tableau VIII.- Liste des stagiaires reçus au CNR-L en 2013.

NOM	PRENOM	FORMATION / AFFILIATION	DATES DU STAGE
CHAARA	Dekra	Thèse Université 2 ^{ème} Année, Projet collaboration, Univ. Monastir, Tunisie	01/02/13 – 31/07/13
KASBARI	Mohamed	Thèse Université 2 ^{ème} Année, Médecin-Inspecteur Vétérinaire, ANSES, Maisons-Alfort	Plusieurs séjours d'une semaine au cours de l'année 2013

5.2. Information, diffusion

Le site Internet du Laboratoire de Parasitologie-Mycologie (www.parasitologie.univ-montp1.fr) inclut les pages spécifiques au CNR-L. Ces pages ont été revues et actualisées. Le site permet une présentation des leishmanioses, du CNR, du CRB et de son organisation, du catalogue des souches disponibles pour la communauté scientifique, et facilite la mise à disposition des souches grâce à des documents concernant la demande et disponibles en ligne.

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 CNR-L. Ce site est présenté en version française, anglaise et espagnole de façon à permettre son accès à une audience internationale. Il est régulièrement revisité pour mieux individualiser et cibler les pages spécifiques au CNR-L dès la page d'accueil. De même le

catalogue de la Collection est accessible dès la page d'accès. A noter que, pour des raisons de confidentialité informatique, le site ne permet pas la notification directe en ligne des cas de leishmaniose par les services ou les laboratoires.

5.3. Conseil aux professionnels de santé

Le CNR assure une veille téléphonique pour répondre aux appels concernant la pathologie, le traitement et le diagnostic.

Les numéros de téléphone des praticiens concernés sont inscrits sur le site web du CNR. Par ailleurs, une adresse mail commune (cnr-leish@univ-montp1.fr) permet une accessibilité plus simple et une possibilité de réponse plus rapide aux éventuelles requêtes.

a) Conseil thérapeutique

L'argumentaire pour ce type de conseil a été énoncé dans les rapports précédents. Depuis 2006, le CNR-L a mis en place une structure de conseil thérapeutique téléphonique destinée aux médecins. Ce conseil thérapeutique est basé sur une collaboration entre le CNR-L (essentiellement Dr Laurence Lachaud, également Pr. P. Bastien) et les Drs. Pierre Buffet (Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, AP-HP, Pitié-Salpêtrière) et Gloria Morizot (Institut Pasteur, Paris). Un numéro téléphonique est accessible aux médecins aux heures ouvrables, permettant de proposer dans les 48 heures au sollicitant (médecin français confronté à un cas et fournissant les informations cliniques nécessaires) une solution thérapeutique au cas par cas, reposant sur une connaissance précise de la littérature et sur l'expérience personnelle des intervenants. La responsabilité de prescription demeure toutefois entre les mains du médecin directement en charge du patient. Ce conseil doit en outre permettre d'améliorer le recueil et la déclaration des effets indésirables graves des médicaments anti-leishmaniens en relation avec les services de pharmacovigilance.

En 2013, 52 conseils thérapeutiques ont été donnés, dont 39 pour des cas de LC, 10 pour des LV, 1 pour des lésions cutanées de type PKDL et 2 pour LCM.

Ce conseil thérapeutique rentre également dans un projet à plus large échelle initié par le Dr Pierre Buffet à Paris Pitié-Salpêtrière et Gloria Morizot (Institut Pasteur). Dans ce projet, les informations médicales nécessaires à la formulation d'un conseil thérapeutique incluent la forme clinique et l'espèce de *Leishmania* suspectée, ainsi que les caractéristiques du patient. Le recueil de l'option thérapeutique qu'aurait choisi le clinicien sollicitant s'il n'avait pas eu accès au conseil cherche à déterminer l'impact tangible de l'activité de conseil (hospitalisations et traitement systémiques non indispensables évités). Enfin, on cherche à savoir si le conseil a été effectivement suivi et quelle a été l'évolution sous traitement. Une base de données gérée par Pierre Buffet et Gloria Morizot recense toutes les données épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques recueillies lors des entretiens téléphoniques pour ce conseil thérapeutique. Cette base de données est maintenant maintenant intégrée dans le projet européen « LeishMan » (Improving treatment of Leishmaniasis based on species differentiation). Il est envisagé que le CNR puisse incrémenter partiellement des données, malgré la non-acceptation par l'InVS de ce Laboratoire en tant que Laboratoire-Associé en 2011.

Un article a été publié en 2013 à ce sujet (*Travelers with cutaneous leishmaniasis cured without systemic therapy. Clin Infect Dis. 2013; 57(3):370-80*).

b) Conseil en matière de diagnostic et typage

Le Dr Christophe Ravel, responsable du diagnostic moléculaire des leishmanioses et du typage des *Leishmania*, reçoit de nombreux appels téléphoniques provenant de professionnels concernant du conseil en matière de diagnostic moléculaire ou d'interprétation des données de typage. Ces appels ne sont toutefois pas tracés.

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

Le CNR-L a participé à plusieurs programmes de recherche conduits dans le Laboratoire de Parasitologie-Mycologie et dans l'unité labellisée "MiVEGEC" : "**Maladies infectieuses et vecteurs : écologie, génétique, évolution et contrôle**" (UMR 5290 CNRS / 224 IRD / UM1/UM2; dir. D. Fontenille), ainsi que directement en collaboration avec des équipes françaises ou étrangères. Dans ce cadre, le CNR-L développe des programmes spécifiques, orientés vers l'épidémiologie et la surveillance des leishmanioses.

6.1. Activités de recherche

6.1.1. Analyse génétique multilocus de *Leishmania* d'Afrique et d'Eurasie

Une analyse génétique multilocus de 222 souches de *Leishmania* d'Afrique et d'Eurasie provenant de la collection du CRB-*Leishmania* de Montpellier a été menée sur plusieurs années et conclue en 2013. Elle a apporté des données nouvelles sur la classification et la structuration génétique des différentes espèces étudiées, en particulier le complexe d'espèces causant la leishmaniose viscérale. Ces travaux ont des retombées pratiques sur l'identification moléculaire des parasites. Ils ont donné lieu à une publication internationale en 2013 :

El Baidouri F, Diancourt L, Berry V, Chevenet F, Pratlong F, Marty P, Ravel C. Genetic structure and evolution of the *Leishmania* genus in Africa and Eurasia: what does MLSA tell us. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013 ; 7(6): e2255

6.1.2. Etude rétrospective de la déclaration des cas de leishmanioses en France

Un travail d'analyse rétrospective de la déclaration des cas au CNR-L depuis 1999 a été réalisé par l'équipe du CNR. Entre 1999 et 2012, 317 cas autochtones et 1,154 cas d'importation ont été notifiés au CNRL. Le nombre moyen des cas autochtones était de 22.6 par an, essentiellement des cas de LV (84.5%). Tous les patients avaient été contaminés dans le sud de la France. Dans la zone d'endémie, l'incidence de la leishmaniose est de 0.22 pour 100,000 habitants. Les cas d'importation sont plus fréquents (moyenne annuelle : 82.4 cas) et sont majoritairement des cas de LC (91%), avec surtout des LC à *L. major* en provenance du Maghreb et de l'Afrique sub-saharienne, et des cas de LC à *L. guyanensis* de Guyane. Finalement, l'évolution temporo-spatiale de la maladie semble relativement stable au cours de cette période de ces 14 années. Ces travaux ont donné lieu à une publication internationale en 2013 :

Lachaud L, Dedet JP, Marty P, Faraut F, Buffet P, Gangneux JP, Ravel C, Bastien P; & the Working Group for the Notification of Human Leishmanioses in France. Surveillance of leishmanioses in France, 1999 to 2012. *Euro Surveill.* 2013 ;18(29) : 20534-40.

6.1.3. Projet DGRST "Eco-épidémiologie de la leishmaniose cutanée à *Leishmania killicki* en Tunisie"

Ce projet collaboratif avec le Pr. H. Babba, de la Faculté de Pharmacie de Monastir en Tunisie, n'est plus financé actuellement. Néanmoins, la collaboration de longue date que le Laboratoire entretient avec cette équipe se poursuit, en particulier avec deux thèses en co-tutelle (l'une par le Dr Pratlong, CNR-L, à Montpellier, l'autre par le Dr Depaquit, Centre

collaborateur du CNR, à Reims, terminée en 2013). Ces deux thèses portent sur les aspects épidémiologiques et noso-géographiques des leishmanioses au Maghreb.

Un article supplémentaire a été publié en collaboration avec cette équipe en 2012 :

Jaouadi K, Haouas N, Chaara D, Boudabous R, Gorcii M, Kidar A, Depaquit J, Pratlong F, Dedet JP, Babba H. Phlebotomine (Diptera, Psychodidae) bloodmeal sources in Tunisian cutaneous leishmaniasis foci : could *Sergentomyia minuta*, which is not an exclusive herpetophilic species, be implicated in the transmission of pathogens ? *Ann. Entomol. Soc. Am.* 2013; 106 (1) : 79-85.

6.1.4. Projet européen FP7 "EDENext" (Biology and control of vector-borne infections in Europe)

Le Laboratoire Coordonnateur est partenaire dans un projet européen qui a débuté en 2011 pour 4 ans, et dont les thèmes entrent parfaitement dans la mission de surveillance du CNR-L; ils répondent en effet à plusieurs des recommandations spécifiques faites par le Comité des CNR pour le CNR-L : suivi de l'évolution des zones d'endémie dans le monde, et contribution aux systèmes de surveillance internationaux, en particulier européen. Le projet EDENext (*Biology and control of vector-borne infections in Europe*), financé dans le cadre du programme européen FP7, regroupe un consortium de 42 partenaires de 22 pays européens et pays associés. Ses objectifs sont de comprendre les processus biologiques et éco-épidémiologiques menant à l'établissement, au maintien et à l'extension des maladies transmises par vecteurs, dont les leishmanioses; à moyen terme, il vise à mettre en place de meilleurs outils de surveillance et de prévention de ces maladies. Les risques d'épidémies seront particulièrement étudiés. L'étude des taux d'infection chez les vecteurs et les réservoirs permettra de mettre à jour les cartes de risques des leishmanioses en Europe.

Le Laboratoire est impliqué dans le sous-programme PhBD (*Phlebotomus-Borne Diseases*) par l'une des équipes de recherche qui y sont rattachées (Dr C. Ravel, équipe GeneSys, dir. A.L. Banuls, UMR "MiVEGEC" 5290 CNRS /224 IRD /UM1). Son rôle spécifique est d'étudier la diversité génétique des souches de *Leishmania* transmises dans les foyers étudiés en France et au Maroc. L'un des Laboratoires Collaborateurs (USC VECPAR, JE 2533, J. Depaquit, Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Pharmacie de Reims) est également largement impliqué dans ce sous-programme.

6.1.5. Projet européen LeishMan « Improving treatment of Leishmaniasis based on species differentiation ».

Un groupe de travail destiné à harmoniser les pratiques de prise en charge thérapeutique des patients atteints de leishmaniose s'est réuni pour la première fois en janvier 2010 à Bâle et plusieurs fois depuis, avec la participation d'un membre du CNR-L (C. Ravel). Ce groupe rassemble des biologistes et cliniciens de plusieurs pays Européens (UK, Suisse, France, Espagne, Allemagne, Pays Bas, Belgique, Portugal).

Le Dr C. Ravel contribue en particulier à ce projet (i) en étant responsable de la partie typage moléculaire; (ii) en mettant à disposition de toutes les équipes des échantillons d'ADN de toutes les espèces de *Leishmania*, avec l'objectif d'harmoniser les techniques d'identification moléculaires des parasites, étape clé dans la prise en charge thérapeutique. Des analyses comparatives ont été faites entre différents systèmes de typage pour déterminer leur résolutivité et leur valeur pratique.

Un article issu de ce travail collaboratif a été publié par ce réseau en 2013 :

Van der Auwera G, Maes I, De Doncker S, Ravel C, Cnops L, Van Esbroeck M, Van Gompel A, Clerinx J, Dujardin JC. Heat-shock protein 70 gene sequencing for *Leishmania* species typing in European tropical infectious disease clinics. *Euro Surveill.* 2013;25;18(30):20543-51.

6.1.6. Travaux de recherche en santé humaine avec les Centres Collaborateurs de Marseille et Nice

L'étude concernant l'identification de souches de *Leishmania* par spectrométrie de masse réalisée par le Centre Collaborateur du Laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Marseille (Pr. R. PIARROUX) en collaboration avec le CNR-L a été achevée; Le niveau de résolution obtenu par cette méthode d'identification est excellent et, de façon surprenante, descend jusqu'au niveau du zymodème. Cette étude a donné lieu à une publication internationale en 2013 :

Cassagne C, Pralong F, Jeddi F, Benikhlef R, Aoun K, Normand AC, Faraut F, Bastien P, Piarroux R. Identification of *Leishmania* at the species level with matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect.* 2013 Sep 5.

Par ailleurs, une collaboration avec le Centre Collaborateur du Laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Nice (Pr. P. MARTY) porte sur la caractérisation par microsatellites de souches de *Leishmania* des foyers du Sud de la France.

6.1.7. Programme de collaboration avec l'université de Kohat (Pakistan)

La collaboration initiée en 2011 avec le Dr vétérinaire M. Hussain, enseignant-chercheur au Département de Microbiologie de l'université de Kohat (Kohat, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan) dans le cadre d'un programme conjoint franco-pakistanaise (Ambassade de France au Pakistan) et à la suite d'une demande d'appui scientifique et technique de l'université de Kohat, s'est poursuivi en 2013 avec le CNR-L, le Laboratoire de Santé Animale LSA de l'ANSES (Dr vétérinaire M. Kasbari) et l'unité EA 4688 ANSES-Vecpar (univ.de Reims, Pr Depaquit), à l'aide d'un financement (post-doc) attribué par le Ministère Pakistanais de l'enseignement supérieur et de la recherche (HEC).

Ces études ont fait l'objet d'une communication orale au congrès WorldLeish 5 (Porto de Galinhas, Brésil) en 2013, et deux publications sont en cours de soumission ou de rédaction. Elles ont montré que dans tous les villages autochtones périphériques aux camps de réfugiés, la prévalence de la leishmaniose cutanée a doublé et qu'elle était essentiellement due à *Leishmania tropica*, avec néanmoins la confirmation de l'apparition pour la première fois dans cette région de *Leishmania major* sur des patients migrants mais également autochtones; ceci pose la question de la nature du réservoir animal impliqué.

Afin d'identifier ce dernier, des prélèvements sur différentes espèces animales domestiques et sauvages ont été effectués pour isolement des souches de leishmanies et analysés en sérologie (IFAT, Western blot) et par PCR-RFLP au LSA, à l'ANSES. Les souches en cours d'isolement sont ensuite typées par isoenzymes et MLST au CNR-L.

Par ailleurs, les premiers résultats de l'enquête entomologique menée dans les foyers ont permis de dresser un inventaire et d'identifier au laboratoire de l'unité EA 4688 ANSES-Vecpar (univ.de Reims, Pr Depaquit) 13 espèces différentes de phlébotomes dont au moins deux espèces impliquées dans la transmission dans ses foyers. Ce travail devrait faire l'objet d'une publication.

6.1.8. Autres travaux collaboratifs en recherche

Plusieurs collaborations menées avec des groupes français ou étrangers (Grèce, Tunisie, Israël) concernant le typage des *Leishmania* ont donné lieu à publication en 2013 (cf. Liste des Publications).

La collaboration avec l'**UMR 5086 CNRS-Université Lyon 1** (Institut de Biologie et Chimie des Protéines, Pr. Sylvie Ricard-Blum) s'est poursuivie en 2013; le projet porte sur la

physiopathologie des leishmanioses, plus précisément sur les interactions entre le parasite et la matrice extra-cellulaire. Une publication issue de ce projet est en cours.

La collaboration avec **l'Université de Lausanne** (Department of Biochemistry, Pr. N. Fasel et Dr C. Ronet), déjà bien engagée depuis 2010 (cession de 126 souches entre 2010 et 2012) s'est également poursuivie, avec la cession de 20 nouvelles souches en 2013. Elle concerne la mise en évidence de virus chez les *Leishmania* du Nouveau Monde qui semblent en rapport avec une pathogénicité accrue du parasite, en particulier avec la production de métastases à distance. Ces travaux ont donné lieu à une communication orale au 5th World Congress on Leishmaniasis (Porto de Galinhas, Brésil) et une publication internationale en 2013 :

Zangger H, Ronet C, Desponds C, Kuhlmann FM, Robinson J, Hartley MA, Prevel F, Castiglioni P, Pratlong F, Bastien P, Müller N, Parmentier L, Saravia NG, Beverley SM, Fasel N. Detection of *Leishmania* RNA virus in *Leishmania* parasites. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(1) : e2006.

Une collaboration s'est mise en place en 2011 avec le **N.I.H. aux Etats-Unis**, pour un programme de séquençage "à haut débit" de nombreux isolats de toutes les espèces de *Leishmania*. L'investigateur principal est le Pr. Stephen Beverley (Dept. of Molecular Microbiology, Center for Infectious Disease Research, Washington University School of Medicine, St-Louis, USA). Les données de ce séquençage "massif" sont encore en cours d'analyse.

Une autre collaboration a débuté en 2013 avec **l'Université d'Oxford** (Department of Zoology, Pr Simon Hay, Dr David Pigott) portant sur l'estimation de la distribution globale des leishmanioses dans le monde avec établissement de cartes de risque prédictives. La base de données du CNR-L a été mise à contribution pour ce travail à grande échelle compilant plusieurs milliers de cas.

6.2. Liste des publications

N.B. Les noms des auteurs appartenant au CNR et au L-A sont soulignés; et ceux appartenant aux L-S ou équipes de recherche associées sont soulignés en pointillé.

6.2.1. Publications nationales

Dedet JP, Carme B, Desbois N, Bourdoiseau G, Lachaud L, Pratlong F. Épidémiologie des leishmanioses autochtones en France métropolitaine et d'outre-mer. *Presse Med*. 2013;42(11):1469-81.

6.2.2. Publications internationales

Lachaud L, Dedet JP, Marty P, Faraut F, Buffet P, Gangneux JP, Ravel C, Bastien P; & the Working Group for the Notification of Human Leishmanioses in France. Surveillance of leishmanioses in France, 1999 to 2012. *Euro Surveill*. 2013 ;18(29): 20534-40.

El Baidouri F, Diancourt L, Berry V, Chevenet F, Pratlong F, Marty P, Ravel C. Genetic structure and evolution of the *Leishmania* genus in Africa and Eurasia: what does MLSA tell us. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013 ; 7(6): e2255.

Pratlong F, Lami P, Ravel C, Balard Y, Dereure J, Serres G, El Baidouri F, Dedet JP. Geographical distribution and epidemiological features of Old World *Leishmania infantum*

and *Leishmania donovani* foci, based on the isoenzyme analysis of 2277 strains. *Parasitology*. 2013 ;140(4): 423-34.

Morizot G, Kendjo E, Mouri O, Thellier M, Pérignon A, Foulet F, Cordoliani F, Bourrat E, Laffitte E, Alcaraz I, Bodak N, Ravel C, Vray M, Grogl M, Mazier D, Caumes E, Lachaud L, Buffet PA. Travelers with cutaneous leishmaniasis cured without systemic therapy. *Clin Infect Dis*. 2013;57(3):370-80.

Roger A, Nacher M, Hanf M, Drogoul AS, Adenis A, Basurko C, Dufour J, Sainte Marie D, Blanchet D, Simon S, Carme B, Couppié P. Climate and leishmaniasis in French Guiana. *Am J Trop Med Hyg*. 2013; 89(3):564-9.

Van der Auwera G, Maes I, De Doncker S, Ravel C, Cnops L, Van Esbroeck M, Van Gompel A, Clerinx J, Dujardin JC. Heat-shock protein 70 gene sequencing for *Leishmania* species typing in European tropical infectious disease clinics. *Euro Surveill*. 2013;25;18(30):20543-51.

Larréché S, Launay G, Weibel Galluzzo C, Bousquet A, Eperon G, Pilo JE, Ravel C, Chappuis F, Dupin M, Mérens A. Cluster of zoonotic cutaneous leishmaniasis (*Leishmania major*) in European travelers returning from Turkmenistan. *J Travel Med*. 2013;20(6):400-2.

Faiman R, Abbasi I, Jaffe C, Motro Y, Nasereddin A, Schnur LF, Torem M, Pratlong F, Dedet JP, Warburg A.A. Newly Emerged Cutaneous Leishmaniasis Focus in Northern Israel and Two New Reservoir Hosts of *Leishmania major*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(2) : e2058.

Zangger H, Ronet C, Desponds C, Kuhlmann FM, Robinson J, Hartley MA, Prevel F, Castiglioni P, Pratlong F, Bastien P, Müller N, Parmentier L, Saravia NG, Beverley SM, Fasel N. Detection of *Leishmania* RNA virus in *Leishmania* parasites. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(1) : e2006.

Jaouadi K, Haouas N, Chara D, Boudabous R, Gorcii M, Kidar A, Depaquit J, Pratlong F, Dedet JP, Babba H. Phlebotomine (Diptera, Psychodidae) bloodmeal sources in Tunisian cutaneous leishmaniasis foci : could *Sergentomyia minuta*, which is not an exclusive herpetophilic species, be implicated in the transmission of pathogens ? *Ann. Entomol. Soc. Am*. 2013; 106 (1) : 79-85.

Ntais P, Sifaki-Pistola D, Christodoulou V, Messritakis I, Pratlong F, Poupalos G, Antoniou M. Leishmaniasis in Greece. *Am J Trop Med Hyg*. 2013 ;89(5) : 906-15

Gouzelou E, Haralambous C, Antoniou M, Christodoulou V, Martinković F, Zivičnjak T, Smirlis D, Pratlong F, Dedet JP, Ozbel Y, Toz So, Presber W, Schönián G, Soteriadou K. Genetic diversity and structure in *Leishmania infantum* populations from southeastern Europe revealed by microsatellite analysis. *Parasit Vectors*. 2013; 6(1) : 342-60.

Cassagne C, Pratlong F, Jeddi F, Benikhlef R, Aoun K, Normand AC, Faraut F, Bastien P, Piarroux R. Identification of *Leishmania* at the species level with matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Sep 5.

6.2.3. Communications à congrès nationaux

- LACHAUD L., CARME B., MARTY P., FARAUT F., BUFFET P., GANGNEUX J.P., SIMON S., RAVEL C., KASBARI M., DESBOIS N., PRATLONG F., DEDET J.P., BASTIEN P. & le Groupe de Travail pour la Déclaration des cas de Leishmanioses. La surveillance des

leishmanioses en France métropolitaine et dans les territoires ultra-marins de 1999 à 2012 (Comm. orale). Société Française de Parasitologie, Dijon, 15-16 Mai 2013.

- VIGNIER N., LIAUTAUD B., MIOSSEC C., PLUMMEL Y., RAVEL C., DESBOIS N., CABIE A.. Premier cas de leishmaniose viscérale autochtone en Martinique due à une *Leishmania* récemment décrite. Journée Nationales d'Infectiologie, Clermont Ferrand, 13-15 Juin 2013. (Communication affichée).

6.2.4. Communications à congrès internationaux

1) Fifth World Congress on Leishmaniasis (Porto de Galinhas, Brésil, Mai 2013)

- DEDET J.P., PRATLONG F., MARTY P., FARAUT F., POMARES C., FAUCHER B., BASTIEN P.. *Leishmania infantum* tegumentary leishmaniasis in Southern France. Retrospective study 1998-2009. (présentation orale)

- GOUZELOU E., HARALAMBOUS C., MARTINKOVIC F., PRATLONG F., DEDET J.P., CHRISTODOULOU V., ANTONIOU M., OZBEL Y., TOZ S.O., PRESBER W., SCHONIAN G., SOTERIADOU K.S. Inference of the population structure of *Leishmania infantum* from Southeastern Europe focusing on Cyprus, Greece and Turkey. (présentation orale).

- KASBARI M., DEPAQUIT J., RAVEL C., DOMMANGET N., HUBERT B., PRATLONG F., LAMI P., BOIREAU P., BASTIEN P., BOURDEAU P., DEDET J.P., BOURDOISEAU G.. Importance of transplacental and venereal transmission for canine leishmaniasis emergence, persistence and spread in non-endemic areas in France : strong evidence from the field to the lab. (présentation orale).

- BEVERLEY S.M., LYE L., AKOPYANTS N.S., DOBSON D.E., OWENS K., PRATLONG F., BASTIEN P., SARAVIA N., VALDIVIA H.O., LUCAS C.M., BALDEVIANO G.C., EDGEL K.A., LESCANO A.G., DUJARDIN J., AREVALO J., SCHIEFER A., CARVALHO E., ZANGGER H., RNET C., FASEL N. Characterization and associations of RNA viruses of *Leishmania braziliensis*. (présentation orale).

- CHAARA D., BANULS A.L., HAOUAS N., RAVEL C., JAOUADI K., LAMI P., TALIGNANI L., DEDET J.P., BABBA H., PRATLONG F.. Genetic structure of *Leishmania killicki* populations in Maghreb. (communication affichée).

- SAKRU N., ATA A., VELET M., DEMIR M., RAVEL C., PRATLONG F.. Visceral leishmaniasis : a rarely diagnosed adult case in the Thrace region, Turkey. (communication affichée).

- JAOUADI K., HAOUAS N., GORCII M., KIDAR A., PRATLONG F., DEDET J.P., BABBA H. Is leishmaniasis widespread in Tunisia ? First data on *Leishmania killicki* in the province of Gafsa, Southwest Tunisia. (communication affichée)

- JAOUADI K., HAOUAS N., GORCII M., BOUDABOUS R., DAHRI B., PRATLONG F., DEDET J.P., SLIM E., BABBA H. Cutaneous leishmaniasis in Tunisia : study of the disease reservoir and first detection of *Leishmania killicki* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) in *Ctenodactylus gundi* (Rodentia, Ctenodactylidae). (communication affichée)

2) Premières Journées Franco-Maghrébines de Parasitologie et Mycologie médicale (Rabat, Maroc, Octobre 2013)

- CHAARA D., BANULS A.L., HAOUAS N., RAVEL C., LAMI P., TALIGNANI L., DEDET J.P., BABBA H., PRATLONG F. Organisation génétique et évolution spatio-temporelle de *Leishmania killicki* en Tunisie. (Présentation orale).

- KASBARI M., RAVEL C., DEPAQUIT J., DOMMANGET N., HUBERT B., PRATLONG F., LAMI P., BOIREAU P., BASTIEN P., BOURDEAU P., DEDET J.P., BOURDOISEAU G. Importance of transplacental and venereal transmission for canine leishmaniasis emergence, persistence and spread in non-endemic areas in France : strong evidence from the field to the lab. (Présentation orale).

- CHAARA D., RAVEL C., HAOUAS N., BANULS A.L., LAMI P., TALIGNANI L., EL BAIDOURI F., HARRAT Z., DEDET J.P., BABBA H., PRATLONG F. *Leishmania killicki* : un complexe indépendant ou un taxon de *Leishmania tropica* ?. (Présentation affichée).

7. COLLABORATION AVEC LES STRUCTURES DE SANTE ANIMALE POUR LA SURVEILLANCE DES LEISHMANIOSES ANIMALES

Dans le contexte actuel d'avancée de la leishmaniose canine rapportée sur des positions de plus en plus septentrionales et dans un contexte plus général d'émergence de maladies vectorielles animales, en lien ou non avec le réchauffement climatique, la surveillance de la leishmaniose animale, de ses différents vecteurs et de ses réservoirs paraît primordiale tant pour la santé animale que pour la santé publique.

Le Centre Collaborateur **Laboratoire Santé Animale de l'ANSES** à Maisons-Alfort (Dr M. Kasbari/Dr P. Boireau), en raison de ses missions de diagnostic, de recherche, d'appui scientifique et technique auprès des tutelles, de veille et surveillance et de son expertise dans le domaine des maladies animales et zoonotiques, contribue à la surveillance de la progression des leishmanioses et des souches de leishmanies susceptibles de passer du réservoir animal à l'homme. La bonne coopération entre le LSA de l'ANSES et le CNR se traduit en matière de surveillance et de veille, tant par des échanges d'informations sur les souches circulantes dans la faune, que de matériel biologique ou méthodologique. Ainsi, les souches isolées chez l'animal, en France ou à l'étranger par le LSA-ANSES, sont régulièrement transmises au CNR-L pour cryoconservation et typage.

Au cours de l'année 2013, le **LSA de l'ANSES** a poursuivi ses activités relatives à la leishmaniose animale et à son vecteur, en collaboration avec le **CNR-L** et l'**EA 4688 Anses-Université de Reims "Vecpar"** (Pr J. Depaquit).

Ces activités ont concerné les points suivants :

1) La surveillance de cas groupés de leishmaniose canine autochtone survenant dans des zones pourtant considérées comme non-endémiques, et donc possibles foyers "ectopiques" à transmission non vectorielle.

2) L'évaluation du rôle respectif des voies de transmission non-vectorielle et vectorielle de la leishmaniose canine dans la dynamique de ces foyers "ectopiques": ainsi, le LSA a étudié l'efficacité des voies de transmission transplacentaire et vénérienne chez le chien en milieu confiné en animalerie de niveau de sécurité A2 (CRBM, ENVA). Les animaux issus d'un élevage professionnel infecté ont été suivis sur plusieurs générations. Ces travaux

ont été présentés au congrès international WorldLeish 5 au Brésil et doivent faire l'objet d'une publication.

3) Des enquêtes entomologiques ont également été poursuivies dans certains départements situés en dehors de la zone d'endémie habituelle de la leishmaniose canine afin (a) d'objectiver le rôle de la transmission non vectorielle dans la dynamique des foyers ectopiques apparus; (b) de déterminer la compétence vectorielle de *Phlebotomus mascitti* ; (c) de contribuer progressivement à l'établissement de la carte de distribution des espèces de phlébotomes présentes hors zone d'endémie au nord de la Loire, permettant à terme de compléter les données manquantes indispensables pour l'évaluation du risque et de son évolution temporelle et spatiale.

4) La surveillance des espèces de leishmanies émergentes dans la faune (ex : *L. siamensis*), et de leur propagation, ainsi que la veille relative aux espèces animales réservoirs (domestiques et sauvages) nouvelles ou anciennes mais récemment décrites infectés en Europe (ex : chevaux, lagomorphes) a été poursuivie. A ce titre, en 2013, 260 sérums équins ont été analysés en ELISA.

En **Guyane Française**, par ailleurs, aucun cas de leishmaniose canine n'a été déclaré. Néanmoins, comme chaque année, le réseau des vétérinaires de la Guyane a reçu une note incitant les recherches en leishmaniose viscérale animale et les déclarations auprès du L-A de Cayenne.

8. PROGRAMME D'ACTIVITE 2014-2015

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, le CNR-L s'efforcera d'améliorer ses performances et d'accroître ses activités, comme il l'a fait depuis sa création.

8.1. Activités d'Expertise

8.1.1. Maintien et dynamique de la Collection de souches du CNR

8.1.1.1. Enrichissement des renseignements relatifs aux souches

La richesse des renseignements relatifs à chaque souche nécessite un travail de contrôle et de synthèse pour faire apparaître certains groupes ou catégories de souches et rendre ainsi plus accessible la Collection en fonction de ce qu'on recherche.

En 2014-2015, les renseignements relatifs à chaque souche continueront à être revus et améliorés. Par ailleurs, le travail d'inclusion de renseignements complémentaires utiles aux équipes de recherche sera poursuivi (cf. 2.2.6), en particulier avec le rajout d'éventuelles références bibliographiques concernant les souches.

8.1.1.2. Enrichissement du catalogue de souches en ligne

Le travail d'incrémentation de souches dans le catalogue en ligne (cf. 2.1.2.3), qui nécessite un contrôle minutieux de tous les renseignements accompagnant les souches, sera poursuivi en 2014 et 2015.

8.1.2. Participation à l'évaluation et à l'amélioration du diagnostic moléculaire des leishmanioses

La mise en place d'un Contrôle de Qualité inter-laboratoires (CIL) pour le diagnostic PCR des Leishmanioses, devrait se poursuivre en 2014, les Laboratoires participants ayant montré leur intérêt pour cette initiative.

8.2. Contribution à la surveillance des leishmanioses

8.2.1. Surveillance des leishmanioses humaines

8.2.1.1. En France métropolitaine (Montpellier)

Le Laboratoire coordonnateur à Montpellier continuera à assurer le **recensement des cas de leishmanioses diagnostiqués sur le territoire métropolitain**, qu'ils soient autochtones ou importés. Dans le département de la Guyane, le Laboratoire-Associé "Guyane" du **Centre Hospitalier de Cayenne** centralisera les déclarations de cas pour la Guyane qui continueront à être transmises au CNR des *Leishmania*.

Les statistiques seront mises sur le site internet du CNRL, et annuellement mises à jour. Un **retour d'information** sera fait auprès des Laboratoires et Services ayant déclaré des cas durant l'année écoulée.

Notre laboratoire continuera à **participer au Réseau sur la surveillance de la co-infection leishmaniose/SIDA** mis en place par l'Organisation Mondiale de la Santé, et au registre des cas de co-infection dans le sud de l'Europe.

Dans les années à venir, nous poursuivrons notre effort **d'amélioration de l'exhaustivité des déclarations de cas**. 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.

Le système envisagé prévoit dans sa structuration des relances périodiques par voie de mail ou courrier (voire d'appels téléphoniques pour mieux renseigner certaines questions spécifiques). Ces envois ainsi que leurs réponses sont tracées. Une adresse mail sera mise à la disposition de tous les laboratoires (à partir du site Internet du Laboratoire) pour toutes questions relatives à la déclaration des cas, permettant ainsi une réponse rapide; l'ensemble des mails sera tracé et conservé par le Laboratoire Coordonnateur.

Enfin, un travail rétrospectif des données nationales du PMSI qui recueille tous les séjours hospitaliers publics ou privés sera réalisé avec l'aide du Département d'Informatique Médicale du CHRU de Montpellier, portant sur la période 2003-2013. L'**exhaustivité** de la surveillance sera estimée en réalisant la comparaison des résultats des déclarations de cas faites au CNR-L avec la base de données.

En ce qui concerne les cas de leishmanioses à *L. guyanensis* du personnel des Armées, le CNR s'efforce d'intensifier sa collaboration avec les **Services de Santé des Armées** afin d'obtenir des données épidémiologiques, cliniques et de suivi thérapeutique plus complètes et ainsi d'établir des protocoles de prévention et de prise en charge (contact avec le Dr Thierry Boyé, dermatologue, HIA Sainte Anne à Toulon). Enfin, des protocoles de suivi plus précis seront établis en collaboration avec le Dr Eric Garnotel, HIA Laveran à Marseille.

Ces différentes actions devraient permettre de mettre en place un véritable **réseau d'épidémiologie-surveillance des leishmanioses** en France.

8.2.1.2. En Guyane Française (L-A de Cayenne)

a) Amélioration de l'exhaustivité de la surveillance

Un effort d'organisation et de motivation des différents partenaires sera mené afin de mieux connaître le véritable niveau d'endémie. Y a-t-il sous-estimation des cas et si oui dans quelle proportion ? Ces dernières années, l'incidence (difficilement) évaluée est nettement inférieure aux estimations anciennes.

Les difficultés à résoudre sont connues et demandent :

- Motivation des acteurs et bonne mise en application des instructions fournies aux personnels soignants des Postes et Centres de Santé avec l'objectif de réduire les difficultés comme celles liées au « turn over » élevé du personnel, à une orientation et une sensibilité plus diagnostic individuel que santé publique.
- Connaissance et prise en compte d'événements extérieurs source de biais : fermeture d'un centre de santé pour des raisons de sécurité, variation du nombre de consultants selon les opérations de lutte contre l'orpaillage, etc ...
- Nécessité d'unifier les relevés de cas en tendant vers l'exhaustivité. Une organisation avec la CIRE Antilles-Guyane sera recherchée avec au mieux l'intégration de la leishmaniose cutanée dans les pathologies officiellement surveillées par cet organisme. Le LHUPM est déjà en relation avec cette CIRE, site Guyane / ARS Guyane, pour la transmission des données de paludisme du CH de Cayenne.

Les règles de recueil des données et les modalités de transmission au Centre Coordonnateur de Montpellier se feront selon les mêmes règles qu'actuellement.

b) Surveillance des possibles cas de leishmaniose viscérale humaine et animale

Chez l'homme :

La leishmaniose viscérale n'est pas endémique en Guyane contrairement à d'autres pays de la région (Brésil, Venezuela). Son implantation est favorisée par la forte prévalence de l'infection à VIH en Guyane mais aussi par l'importance des migrants en provenance du Brésil. Cela impose une surveillance du fait des mouvements migratoires (homme et animaux). La recherche sera systématique par PCR en temps réel en cas de suspicion clinique, associée à la sérologie classique, avec des indications élargies chez les sujets immunodéprimés.

Chez l'animal :

Recherche et/ou identification d'espèces à la demande des services et des praticiens vétérinaires suspectant une infection à *L. infantum*, chez le chien en premier lieu.

c) Optimisation de la confirmation parasitologique, détermination des espèces et recueil des souches

Nous chercherons à obtenir une confirmation parasitologique le plus souvent possible en essayons de se rapprocher de l'exhaustivité des cas ayant abouti à une consultation en milieu médical. Pour ce faire, nous préconisons la réalisation systématique d'une mini-biopsie type "punch", associée au recueil des prélèvements de sécrétions dermiques des lésions. La biopsie permettant la mise en culture facilite d'autant l'identification de l'espèce et permet d'isoler et de conserver les souches. Dans certains cas, les techniques de PCR-RLFP pourront être réalisées à partir de la biopsie elle-même (culture négative, contaminée ou non réalisée).

Les données recueillies permettront entre autres de surveiller l'émergence de *L. braziliensis* dans ce département.

d) Etudes épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques

Le dernier objectif est d'actualiser les données de nature épidémiologique (en particulier l'influence des paramètres climatiques) mais aussi relatives aux présentations cliniques et aux aspects thérapeutiques.

Il implique la participation du service de Dermatologie avec lequel nous avons une étroite et ancienne collaboration (Pr. Pierre Couppié) et avec l'aide méthodologique apportée par le CIC-EC (Pr. Mathieu Nacher).

Il s'agit de :

- parfaire nos connaissances concernant la leishmaniose à *L. guyanensis*.
- préciser les aspects particuliers des atteintes dues aux autres espèces, tout particulièrement *L. braziliensis*.
- décrire les spécificités en cas de déficit immunitaire (infection rétrovirale VIH, HTLV1).

8.2.2. Collaboration avec les structures en santé animale pour la surveillance de la leishmaniose animale

Les projets de collaboration dans ce domaine concernent surtout le Centre collaborateur situé à l'ANSES, Laboratoire de Santé Animale, Maisons-Alfort (Dr M. Kasbari) et l'Unité de recherche en entomologie médicale EA 4788 ANSES-Vecpar de l'Université de Reims (Pr. J. Depaquit) et seront poursuivis principalement selon trois axes :

- 1) la poursuite de la surveillance de la dynamique des foyers (dits "ectopiques") de leishmaniose canine, d'extension possible sans vecteur, dans différents départements considérés comme non endémiques ;
- 2) la veille relative aux souches de leishmanies circulantes et/ou émergentes dans les réservoirs animaux ;
- 3) les enquêtes entomologiques en zone non-endémique et l'étude de la compétence vectorielle du phlébotome *Phlebotomus mascitti*, majoritaire dans la moitié nord de la France mais dont la biologie et la compétence vectorielle demeurent inconnues.

Par ailleurs, une enquête sur la leishmaniose canine dans l'Hérault pourrait être réalisée en collaboration avec Bernard Davoust de l'UMR URMITE à Marseille (dir. Didier Raoult).

8.3. Conseil, Information, Formation

Le CNR-L contribuera à la mise à jour annuelle des **recommandations aux voyageurs** par l'InVS, d'une part par des données actualisées sur les leishmanioses importées et d'autre part le suivi des zones d'endémie dans le monde. Les données concerneront surtout le Maghreb et la Guyane Française.

Il nous semble aussi intéressant de développer une politique d'information pour les personnes se rendant au Maghreb pour une longue durée (1 à 2 mois) durant la saison de transmission de *Leishmania major* afin d'éviter une recrudescence de cas de leishmaniose cutanée à *L. major* importées du Maghreb (cf. Alerte 2009-2010). Ceci se fera en collaboration avec la CIRE Languedoc-Roussillon.

8.4. Recherche en lien direct avec l'activité du CNR

Les projets de recherche en cours seront développés particulièrement dans leur interface avec le CNR-L, à la fois dans et entre le Laboratoire Coordonnateur, le Laboratoire-Associé et les Centres Collaborateurs.

8.4.1. Projet européen EDENext

Le projet EDENext (*Biology and control of vector-borne infections in Europe*), financé dans le cadre du programme européen FP7, s'efforce de comprendre les processus

biologiques et éco-épidémiologiques menant à l'établissement, au maintien et à l'extension des maladies transmises par vecteurs, dont les leishmanioses; à moyen terme, il vise à mettre en place de meilleurs outils de surveillance et de prévention de ces maladies. Le CNR continuera de s'impliquer dans le sous-programme PhBD (*Plebotomus-Borne Diseases*) par l'une des équipes de recherche qui y sont rattachées (Dr C. Ravel, équipe GeneSys, dir. A.L. Banuls, UMR "MiVEGEC" 5290 CNRS /224 IRD /UM1). Son rôle spécifique est d'étudier la diversité génétique des souches de *Leishmania* transmises dans les foyers étudiés en France et au Maroc

8.4.2. Projet européen LeishMan « Improving treatment of Leishmaniasis based on species differentiation ».

Ce projet se poursuit depuis plusieurs années avec l'objectif d'harmoniser les techniques d'identification moléculaires des parasites, étape clé dans la prise en charge thérapeutique et de mettre en place une base de données intégrant des données cliniques, épidémiologiques, thérapeutiques et d'identification des parasites qui devraient permettre une prise en charge mieux standardisée des patients. Des guidelines pour l'identification moléculaire des espèces ont été définies en 2013 par le groupe de travail et vont être publiées en 2014. La méthodologie d'identification par MLST développée ces dernières années par le CNR-L (DR Christophe Ravel) sert de référence dans ces comparaisons.

8.4.3. Recherche en santé humaine en collaboration avec les Centres Collaborateurs du CNR

Le **Centre Collaborateur de Marseille**, outre l'identification des espèces de *Leishmania* par spectrométrie de masse (cf. § 8.1.3), poursuit deux projets de recherche en collaboration avec le CNR-L :

- Etude des chimio-résistances de *Leishmania infantum* (Dr Ch. Mary)
- Epidémiologie et géographie de la leishmaniose viscérale autochtone dans les deux régions les plus touchées par cette maladie en France (PACA, puis Languedoc-Roussillon) (Pr. R. Piarroux). Le CC de Marseille utilise de manière systématique les Systèmes d'Informations Géographiques associés aux logiciels de modélisation afin de représenter et d'analyser l'épidémiologie de la leishmaniose autochtone. Ce travail, particulièrement nécessaire dans le contexte actuel d'extension du territoire touché par la maladie, porte sur la région Provence-Alpes Côte d'Azur et notamment sur le foyer provençal; il sera généralisé à tout le pourtour méditerranéen français. Il permettra d'évaluer l'impact des mesures de lutte comme celles ciblant le réservoir canin, ce qui est particulièrement important dans le contexte actuel de diffusion de colliers à la deltaméthrine et d'arrivée sur le marché d'un vaccin anti-leishmanien destiné à ce réservoir domestique.

La collaboration avec le **Centre Collaborateur de Nice** (Pr Pierre Marty) sur le typage des souches par microsatellites va se poursuivre en 2014, permettant de réaliser ces travaux sur d'autres foyers de leishmaniose du Sud de la France : Provence, Cévennes, Pyrénées Orientales.

8.4.4. Recherche en collaboration avec les structures travaillant en santé animale et en entomologie médicale

8.4.4.1. Evaluation de l'exposition des populations humaines et animales aux phlébotomes vecteurs, en zone et hors-zone d'endémie en France

Le projet "**PhlebExpo**" est un projet de recherche porté par 3 équipes, l'EA ANSES-Université de Reims "Vecpar" (Pr J. Depaquit), le Laboratoire Santé Animale de l'ANSES à Maisons-Alfort (Dr M. Kasbari) et le CNR-L (Dr. C. Ravel) et est financé par l'ANSES (appel d'offres Environnement-Santé-Travail, 2012-2015). Son objectif est d'évaluer le niveau d'exposition réelle, sur le terrain, des populations humaine et animale aux piqûres de

phlébotomes en zone d'endémie de leishmaniose, mais également hors zone d'endémie, et ce, à l'aide de tests ELISA et Western blot à développer, basés sur les antigènes salivaires de phlébotomes, et capable de détecter chez l'homme et le chien, les anticorps anti-salive du vecteur, biomarqueurs reconnus d'exposition aux piqûres.

Après la mise en place d'un élevage pilote de *P. duboscqi* dans l'unité Vecpar en 2012/2013, le projet s'est poursuivi par la collecte des sérums canins nécessaire à l'étude auprès de cliniques vétérinaires et doit se poursuivre en 2014 par la mise en place d'élevage d'autres espèces de phlébotomes, notamment *P. perniciosus* et si possible *P. mascitti*, afin d'obtenir en quantité des phlébotomes de chaque espèce pour permettre une production suffisante des antigènes salivaires spécifiques nécessaires au développement des kits de dépistage sérologique.

8.4.4.2 Etude des voies de transmission non-vectorielle chez le chien

Après les résultats très intéressants obtenus ces 3 dernières années, l'étude de l'efficacité des voies de transmission transplacentaire et vénérienne de la leishmaniose chez l'espèce canine sera poursuivie au Laboratoire de Santé Animale (ANSES, Maisons-Alfort) et en animalerie de niveau de sécurité A2 (CRBM, Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort) afin de déterminer si la transmission vénérienne est uni (mâle vers femelle) ou bidirectionnelle (mâle vers femelle et vice-versa), avec quelle efficacité comparée, et si elle se maintient sur plusieurs générations successives d'animaux sans intervention de vecteurs.

8.4.4.3. Etude des réservoirs animaux non conventionnels

Suite (i) à l'apparition en Allemagne, en Suisse, puis aux USA de cas de leishmaniose animale cutanée imputées à une espèce exotique inconnue jusqu'alors (*L. siamensis*), sur des espèces animales habituellement non cibles (chevaux, vache), et (ii) à l'épidémie de leishmaniose humaine en Espagne (Madrid) concomitante à une prolifération de lagomorphes infectés par la leishmaniose, un travail d'évaluation de l'infection chez différents réservoirs animaux non conventionnels est toujours en cours et sera poursuivi au Centre collaborateur sis à l'ANSES: 260 sérums équins analysés en Elisa en 2013 seront analysés également en Western blot en 2014, avec d'autres sérums en cours de collecte.

8.4.4.4. Description et étude de pathogénicité de la nouvelle espèce *Leishmania siamensis* sur modèles animaux

Afin de décrire correctement cette nouvelle espèce et clarifier /objectiver son implication réelle (ou non) dans les leishmanioses animales apparues récemment en Europe et aux USA (cf.ci dessus) seront conduites des études : (i) de caractérisation morphologique et de pathogénicité sur plusieurs modèles animaux au Centre collaborateur LSA de l'ANSES et (ii) de caractérisation biochimiques (typage isoenzymatique) et moléculaires (typage MLST) au CNR-L à Montpellier.

8.4.4.5. Etude de la compétence vectorielle du phlébotome *Phlebotomus mascitti*

P. mascitti est l'espèce de phlébotome rapportée comme majoritaire dans la moitié nord de la France, mais sa biologie et sa compétence vectorielle demeurent inconnues.

De nouveaux essais de piégeage, afin d'obtenir une quantité plus importante de *Phlebotomus mascitti* en lien avec le projet PhlebExpo (cf. supra), seront conduits par le Centre collaborateur LSA de l'ANSES (Maisons-Alfort) et l'EA 4688 Anses "Vecpar" (Reims) pour poursuivre les essais expérimentaux de transmission et de compétence vectorielle conduits en 2011 à l'université de Heidelberg et en animalerie confinée de niveau 2 (ENVA, CRBM) à Maisons-Alfort.

8.4.5. Autres projets de recherche en collaboration

a) En France

Plusieurs collaborations sont en cours avec l'UMR 5290 CNRS-IRD-Université Montpellier (Dr D. Fontenille) au sujet de l'épidémiologie de la leishmaniose en Tunisie (A.L. Banuls) et de la résistance de *L. infantum* aux antimonies (D. Sereno).

La collaboration avec l'**UMR 5086 CNRS-Université Lyon 1** (Pr. Sylvie Ricard-Blum) au sujet des interactions entre le parasite et la matrice extra-cellulaire est poursuivie.

b) A l'étranger

Les **collaborations avec la Tunisie** (Pr. H. Babba, Faculté de Pharmacie de Monastir) **et l'Algérie** (Pr. Z. Harrat, Institut Pasteur d'Algérie; Dr K. Aït-Oudhia, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alger) seront poursuivies. Elles visent à étudier l'épidémiologie des leishmanioses viscérales et cutanées, et la caractérisation biochimique et moléculaire des agents pathogènes. L'extension du complexe *Leishmania killicki* dans tout le Sud du Maghreb fera l'objet de collaborations transnationales. Les réservoirs et phlébotomes vecteurs de cette espèce seront activement recherchés.

La **collaboration avec l'Université de Lausanne** (Pr. N. Fasel et Dr C. Ronet) sur les RNA virus présents chez les *Leishmania* sera triple puisqu'elle **inclura le L-A de Cayenne**. Ces virus ont en effet été montrés comme jouant un rôle dans la virulence des espèces présentes en Guyane (*L. guyanensis* et *L. braziliensis*). L'objectif avec Cayenne sera d'évaluer la prévalence des RNA *Leishmania* virus chez *L. guyanensis* et déterminer leur diversité génétique. Le promoteur du projet à Cayenne est l'EPaT ou EA 3593 (Université Antilles-Guyane), en partenariat avec l'Institut Pasteur de Cayenne (Laboratoire d'immunologie des Leishmanioses, Laboratoire des Interactions Virus-Hôtes), et le L-A au CNRL pour les composantes clinique et parasitologique.

La collaboration avec **le NIH aux U.S.A.** (Pr. Stephen Beverley) sur le séquençage haut débit de souches de ce parasite sera également poursuivie, de même que celle avec **l'Université d'Oxford** (Department of Zoology, Pr Simon Hay, Dr David Pigott) portant sur l'estimation de la distribution globale des leishmanioses dans le monde.

La collaboration impliquant **l'Université de Kohat au Pakistan** (Dr M. Hussain), le Laboratoire de Santé Animale de l'ANSES de Maisons-Alfort (Dr M. Kasbari), l'Unité EA 4688 USC ANSES-VECPAR (Univ. Reims, Pr Depaquit), et le CNR-L sera poursuivie en 2014 et 2015 sur d'autres foyers humains de LC dans les autres districts de la province pour identification des réservoirs et des vecteurs susceptibles d'être impliqués dans l'apparition des foyers épidémiques et le maintien de la maladie dans cette province reculée et difficilement accessible du Nord-Ouest du Pakistan. Les prélèvements collectés continueront pour partie à être mis en culture et pour partie analysés par sérologie et PCR au LSA, ANSES puis typés par analyse moléculaire et isoenzymatique au CNR-L. Les phlébotomes recueillis seront identifiés et analysés dans l'unité VECPAR.

Cette collaboration permettra ainsi de mettre en place des outils de diagnostic de la leishmaniose animale au Pakistan, et d'évaluer l'impact de la leishmaniose en santé publique humaine et animale.

8.4.6. Projets internes au CNR directement adossés à la Collection

Le travail rétrospectif d'analyse des souches présentes dans la Collection, portant à la fois sur les aspects épidémiologiques, noso-géographiques et taxonomiques, sera poursuivi (F. Pratlong/L. Talignani).

8.4.7. Activités de Publication

L'effort sera poursuivi pour publier les résultats obtenus par le CNR-L. Il nous semble en effet essentiel que le CNR soit visible sur les plans national et international. Les publications scientifiques ou de vulgarisation, de même que les communications à congrès et les conférences, permettent de diffuser les acquis, les connaissances et l'expertise des membres du CNR.

* * *

REMERCIEMENTS

Ce rapport a été réalisé par Patrick BASTIEN, avec l'aide indispensable de Francine PRATLONG, Laurence LACHAUD et Christophe RAVEL, ainsi que de Loïc TALIGNANI et Yves BALARD pour Montpellier, et de Pierre COUPPIE et Magalie DEMAR pour Cayenne.

Je souhaite remercier l'ensemble des personnels du CNR-L pour leur travail œuvrant au développement du CNR, et en particulier F. Pratlong pour le gros travail de "curation" entrepris cette année, C. Ravel pour la mise en œuvre de la démarche Qualité, Yves Balard pour son investissement dans la mise en place du logiciel de gestion commun aux CRB-microbiologie «BRC-LIMS », L. Talignani pour son investissement dans les trois domaines sus-cités (!), P. Lami pour son expertise croissante dans l'identification isoenzymatique et L. Lachaud pour son travail de suivi épidémiologique.

Je remercie également les Centres collaborateurs et leurs responsables, autant en santé humaine (Pr Renaud Piarroux, AP-HM Marseille, Pr Pierre Marty, CHU de Nice, et Dr Pierre Buffet, Hôpital Pitié-Salpêtrière à Paris, ainsi que le Dr Gloria Morizot à l'Institut Pasteur) qu'en santé animale (Drs Mohamed Kasbari et Pascal Boireau, ANSES, Laboratoire de Santé Animale, Maisons-Alfort, Pr Gilles Bourdoiseau, ENVL, Lyon, et Pr Jérôme Depaquit, Université de Reims).

Au nom du CNR-L, je remercie également tous les Centres hospitaliers et tous les praticiens qui ont effectué des déclarations de cas, et/ou qui nous ont adressé prélèvements ou souches.

Je remercie enfin l'Institut de Veille sanitaire pour son appui efficace aux actions du CNR.



Liste des tableaux et figures contenus dans ce document

Tableau I. Fréquence de réalisation des techniques au L-A de Cayenne et leurs résultats dans le cadre de la leishmaniose cutanée ou cutanéomuqueuse.

Tableau II.- Origine selon le centre de soins, des 94 souches de Leishmania traitées par le CNR-L en 2013.

Tableau III.- Origine géographique par pays d'isolement des 94 souches traitées par le CNR-L en 2013.

Tableau IV.- Détails des identifications enzymatiques de 82 souches réalisées en 2013.

Tableau V.- Evolution des cas positifs au et des identifications d'espèce au L-A de Cayenne.

Tableau VI.- Lieux de contamination pour l'ensemble des cas de leishmanioses déclarés au CNR-L en 2013.

Tableau VII. - Cas de leishmaniose cutanée contractés en Guyane en 2013, en fonction de la source de déclaration.

Tableau VIII.- Liste des stagiaires reçus au CNR-L en 2013.

Figure 1.- Réseau de partenaires et type d'examens envoyés au L-A de Cayenne.

Figure 2.- Répartition des différentes espèces de Leishmania isolées en 2013 au L-A de Cayenne.

Figure 3.- Répartition des cas positifs, négatifs et des demandes de diagnostic au L-A de Cayenne sur l'année 2013.

ANNEXES

(cf. document séparé)

1. Mission et organisation du CNR

1.1. Rappel des missions et objectifs du CNR

1.2. Organisation actuelle du CNR

1.3. Description de l'équipe : personnels dévolus dans les activités

1.4. Locaux et équipements (CNR et laboratoires associés):

1.5. Description de la démarche Qualité du laboratoire

2. Capacités techniques du CNR

2.1. Liste des techniques de référence

2.1.1. Diagnostic

2.1.2. Typage biochimique : Identification iso-enzymatique

2.1.3. Typage moléculaire

2.1.4. Autres techniques de typage

2.1.5. Etude in vitro de la chimiosensibilité des souches de *Leishmania*

2.2. Collections de matériels biologiques

2.2.1. Collection de souches de *Leishmania* (Centre de Ressources Biologiques)

2.2.2. Application informatique de gestion de la collection du CNR

2.2.3. Conditions de mise à disposition de la collection

2.2.4. Collection d'ADN de *Leishmania*

2.3. Liste des techniques (diagnostic/identification, typage, sensibilité aux anti-infectieux...) recommandées par le CNR