



Centre National de Référence de *Francisella tularensis*

CNR *Francisella*

Unité Zoonoses Bactériennes
Agence Française de Sécurité
Sanitaire des Aliments (AFSSA)
BP 67
94703 Maisons-Alfort Cedex
Tél : 01 49 77 13 24
Fax : 01 49 77 13 44
e-mail : j.vaissaire@afssa.fr

Dr Josée VAISSAIRE

Laboratoire Associé:

Service de Biologie Médicale
Centre Hospitalier

BP 269
46005 Cahors cedex 9
Tél : 05.65.20.50.75
Fax : 05.65.20.51.10
e-mail : lecoustumier@ch-cahors.fr

Dr Alain LE COUSTUMIER

Rapport d'activité annuel du Centre National de Référence de *Francisella tularensis*

Année 2002

La tularémie ne faisait plus l'objet d'une surveillance en France depuis la cessation en 1987 de l'ancien Centre National de Référence des *Pasteurella* et *Francisella* du Pr. Mollaret à l'Institut Pasteur de Paris, faisant suite à la cessation de la déclaration obligatoire en 1986.

L'arrêté du 8 octobre 2002 complétant l'arrêté du 26 avril 2002 fixant la liste des centres nationaux de référence pour la lutte contre les maladies transmissibles et des laboratoires associés a nommé :

- pour le centre national de référence des *Francisella tularensis*, l'Unité des Zoonoses Bactériennes (Chef d'Unité : Dr Vre B. Garin-Bastuji), à l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, Laboratoire d'Etudes et de Recherche en Pathologie Animale et Zoonoses de Maisons-Alfort (CNR, responsable : Dr Vre. Josée Vaissaire) ;
- pour le laboratoire associé au CNR, le laboratoire de biologie du Centre Hospitalier de Cahors (CNR-LA, responsable : Dr Alain Le Coustumier, biologiste des hôpitaux).

Un projet de convention de collaboration, est déjà rédigé et devrait être signé courant 2003.

Malgré une demande de la Direction Générale de l'Afssa en date du 7 novembre 2002, le CNR *Francisella tularensis* n'a fait l'objet d'aucune convention entre l'Afssa et la Direction Générale de la Santé et l'InVS. Aucun budget lui permettant d'assurer ses fonctions de CNR ne lui a été alloué pour 2002 comme pour 2003. Le CNR-LA a, quant à lui, reçu une subvention. Seule la fiche « Utilisation des crédits accordés par le ministère en 2002 » correspondant au CNR-LA a donc été établie et transmise directement par le CNR-LA.

1. ACTIVITE

Le CNR *Francisella* et le CNR-LA ont été nommés le 8 octobre 2002. Ce rapport d'activités porte donc sur les trois derniers mois de l'année 2002.

1.1. Expertise

1.1.1. Identification et typage de souches adressées par les laboratoires d'analyse et de biologie médicale:

- confirmation de l'identification et typage de souches d'espèces courantes. Les identifications de souches courantes et les diagnostics sérologiques qui constituent des activités habituelles de diagnostic des laboratoires d'analyse de biologie médicale ne devraient être confiées aux centres nationaux de référence que de façon exceptionnelle et dans ce cas pourraient donner lieu à facturation.

- identification et typage de souches d'espèces peu courantes (pour *Francisella tularensis*, il sera particulièrement demandé : apporter son expertise en appui au diagnostic pour les laboratoires d'analyse de biologie médicale pour l'isolement, la détermination de l'espèce et le diagnostic sérologique et par biologie moléculaire)

Le CNR effectue la confirmation, l'identification, la détermination de l'espèce et des tests complémentaires de biologie moléculaire. Les techniques de biologie moléculaire (PCR) ont été appliquées systématiquement, en plus de l'identification, sur toutes les souches d'origine humaine ou animale que nous avons eu à traiter, lors des envois reçus.

Une souche est parvenue au CNR, isolée d'une lésion cutanée d'un patient, en provenance d'un Centre Hospitalier Intercommunal.

Un envoi du laboratoire spécialisé Pasteur-Cerba, pour un prélèvement envoyé trois semaines avant d'un Centre Hospitalier, pour PCR, s'est révélé négatif.

Le CNR a été informé au préalable d'envois de souches et/ou d'extraits d'ADN sur les cas probables et en a informé le CNR-LA pour la réception d'éventuels sérums ou prélèvements.

Le CNR-LA apporte son expertise essentiellement pour le diagnostic sérologique, le traitement éventuel de prélèvements et les conseils aux laboratoires d'analyse de biologie médicale. Il a reçu sept sérums de cinq patients, quatre patients présentaient une sérologie positive. Deux autres cas lui ont été signalés mais il n'a pas reçu de prélèvements.

Le CNR-LA a pu répondre à quelques demandes téléphoniques de LABM libéraux, hospitaliers et hospitalo-universitaires concernant des précisions sur les sensibilités, spécificités du diagnostic sérologique et leur a fourni des documents sur ce sujet et plus généraux. Le CNR, pour sa part, a été interrogé sur la maladie, sa transmission, les méthodes d'isolement et d'identification de la bactérie et a fourni les éléments nécessaires.

1.1.2. Maintien, détention et diffusion des techniques de diagnostic et/ou d'identification et de typage:

*Collections de souches types (pour *Francisella tularensis*, il sera particulièrement demandé : de reprendre, conserver et développer une collection de souches)*

Dès octobre 2002 des contacts ont été pris par A. Le Coustumier avec le laboratoire des identifications moléculaires du Pr. P. Grimont et Anne Le Flèche à l'Institut Pasteur Paris pour

retrouver, prendre des mesures conservatoires et éventuellement pouvoir transférer à l'Afssa la souchothèque de l'ancien CNR du Pr. Mollaret qui avait été maintenue par le Dr Tram, jusqu'à son départ à la retraite en début 2002, ainsi que la collection de sérums à Cahors. Le CNR Tularémie a pu reprendre une partie des archives (papiers) de l'ancien CNR de l'Institut Pasteur sur proposition de ce dernier, mais la collection de souches n'a pu être récupérée à ce jour et demeure encore à l'Institut Pasteur Paris. Il serait cependant souhaitable de pouvoir en faire un inventaire (souches sauvages d'origine humaine et animale, souches vaccinales éventuelles), d'autant que les échanges ont été fréquents, dans le passé, entre le laboratoire du CNR et celui du Pr. Mollaret.

Le CNR a entrepris une collection de souches d'origine humaine et poursuit celle déjà constituée en tant que Laboratoire National de Référence de la Tularémie animale (LNR).

> antigènes

Le CNR-LA a décidé du stockage d'une quantité d'antigène suffisante pour pouvoir répondre à une centaine de demandes dans un éventuel contexte épidémiologique ou pour pallier une déficience de l'unique fournisseur commercial (Difco-Becton-Dickinson) d'antigène utilisable pour le sérodiagnostic. Une réorganisation complète de la gamme de ce fournisseur a effectivement rendu indisponibles certains réactifs indispensables en fin d'année 2002, au moment du démarrage du CNR-LA.

> sérums de référence

La constitution d'une collection de sérums congelés à -80°C a commencé sur le site du CNR-LA et s'enrichit au fur et à mesure de la réception des sérums. Cette collection devrait permettre une étude de contrôle de qualité externe comparative des laboratoires peu nombreux pratiquant cette sérologie en France, courant 2003.

> marqueurs épidémiologiques

Le centre national de référence peut être amené à assurer une distribution de ces réactifs de référence si ceux-ci ne sont pas disponibles.

Il a été, comme dit plus haut, constitué une réserve d'antigènes et de sérums de référence et de contrôle pour pallier leur éventuelle indisponibilité sur le marché.

1.1.3. Participation à la mise au point, à l'évaluation et aux recommandations concernant les techniques de diagnostic et/ou d'identification et de typage

Evaluations, mises au point concernant les techniques de diagnostic immunologique (CNR-LA) :

> Actuellement la sérologie est pratiquée par technique d'agglutination des suspensions bactériennes sur lames et en tubes avec l'antigène formolé Difco Becton-Dickinson. Cette technique est robuste, sensible aux IgM et peut être pratiquée sur des sérums animaux. De plus, à notre connaissance elle est utilisée par tous les laboratoires en France qui pratiquent cette sérologie, à l'exception du laboratoire Pasteur-Cerba qui utilise son propre antigène.

> Evaluation de la concordance entre les deux techniques: un changement dans la gamme Difco BD nous a amenés à nous interroger sur les raisons de l'uniformisation de la préparation de l'antigène actuellement commercialisé (formolé) par rapport à la gamme précédente où l'antigène était formolé

pour la réaction en tube mais phénolé pour la réaction sur lame. Une recherche bibliographique est en cours et des tests seront conduits en fonction des résultats de ces recherches.

> Dépistage des réactions croisées : Il est connu de longue date qu'il existe des réactions croisées faibles entre *Francisella* et *Brucella* et à un niveau moindre avec *Yersinia enterocolitica* O:9. Cette précaution est rappelée lors des demandes téléphoniques d'expertise de cas et une sérologie brucellose est pratiquée systématiquement sur les sérums reçus.

> Des conseils concernant les techniques de diagnostic et/ou d'identification ont été donnés.

> Recommandations :

Le CNR-LA a participé avec le Dr P.Laudat du CHU de Tours à l'écriture du chapitre Tularémie du prochain Référentiel en Microbiologie REMIC qui doit être prochainement édité sous l'égide de la Société Française de Microbiologie

> Il a également activement participé à la mise au point, avec le Dr H. De Valk de l'InVS, du questionnaire d'investigation épidémiologique des cas utilisé lors des déclarations obligatoires.

> Le CNR a été consulté sur la rédaction de la fiche « Tularémie » de l'O.I.E.

> Il a participé à la mise au point, à l'évaluation et aux recommandations concernant les techniques de prélèvement et de diagnostic et sur les aspects cliniques de la maladie pour la fiche technique élaborée par la DGS.

1.1.4. Contribution à l'évaluation de la sensibilité des anti-infectieux

L'évaluation de la sensibilité et de la résistance aux anti-infectieux a été effectuée à différentes fins : thérapeutiques, mais aussi de suivi dans l'apparition éventuelle de résistance à des molécules connues pour leur efficacité, et d'antibiotype des souches. Cette dernière est très utile dans le cadre de l'épidémiologie-surveillance. Elle confirme, entre autres que les souches trouvées sont bien de *Francisella tularensis* biovar *holarctica*.

1.1.5 Participation à l'évaluation des procédures d'inactivation des agents pathogènes

Non effectuée pendant ces trois mois, mais dans le cadre du plan Biotox, le LNR avait fourni des informations concernant la sensibilité de *Francisella* aux désinfectants.

1.1.6. Information, formation et, le cas échéant, élaboration et publication de guides techniques

Information

- Vigilance bibliographique : Le CNR-LA assure une veille scientifique et bibliographique afin de maintenir une bibliographie à jour et aussi exhaustive que possible sur le sujet. Il a pour cela pris attache avec l'INIST de Nancy et la Bibliothèque Inter-Universitaire de Toulouse. Il assure la remontée de cette veille bibliographique au CNR. Par ailleurs le CNR-LA avait pu avoir accès grâce à

l'obligeance du Dr G. Baranton (Institut Pasteur) aux archives de l'ancien CNR du Pr. Mollaret et a pu ainsi constituer un fond bibliographique avec l'historique du sujet et des publications dont certaines ne sont pas / plus référencées et / ou plus disponibles.

- Mise à disposition de la bibliographie : cette bibliographie en notre possession est mise à disposition et les articles diffusés aux personnes qui en font la demande ou joints aux résultats s'il s'avère qu'ils peuvent éclairer le cas examiné.
- Elaboration et publication de guides techniques
- Relecture du chapitre "*Francisella tularensis*" de la 2^{ème} édition de REMIC déjà évoqué
- > Le CNR possède une bibliographie ancienne et récente et transmet des informations à la demande ou distribue de la documentation lors de formation continue.
- > Le CNR participe chaque année à la formation des personnels des laboratoires hospitaliers et de biologie médicale lors de formations continues : Bioforma (Faculté de Pharmacie, René Descartes, Paris). Il organise d'autre part tous les ans des sessions de formation pour les personnels des laboratoires d'analyses vétérinaires.
- > Il a participé au cours de bactériologie médicale de l'Institut Pasteur.

Il est en cours d'élaboration d'un article général de vulgarisation et d'information sur la maladie à l'attention des différents acteurs impliqués dans la gestion, la régulation, la surveillance de la faune sauvage et de ses maladies, pour le bulletin SAGIR (Réseau de Surveillance Active et Gestion de la faune sauvage) avec un certain nombre de recommandations tant pour les chasseurs, les agents de l'ONCFS (Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage) que pour les fédérations de chasse et les laboratoires d'analyses vétérinaires. Il les incite à une meilleure détection des cas sur le terrain, et à la bonne transmission des prélèvements et des souches. Il conseille aussi de ne pas oublier de recommander aux personnes exposées, ayant des symptômes, de consulter leur médecin qui pourra faire pratiquer des tests sérologiques.

Une publication acceptée est en cours d'édition :

Peruchon S., Hénault S., Mendy C., Vaissaire J. (2002). Contribution au diagnostic de la tularémie (*Francisella tularensis*) par des méthodes d'amplification génique in vitro (PCR). Bull. Acad. Vét. de France (sous presse).

Toutes les publications antérieures sont annexées au dossier de candidature du CNR.

1.2. Contribution à la surveillance

1.2.1. Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections.

- *Les centres nationaux de référence qui participent à la surveillance d'une infection doivent, au minimum, contribuer à renseigner les items suivants en coordination avec l'InVS :*
 - > *informations épidémiologiques : âge, sexe, date et type de prélèvement, notion de cas groupés;*
 - > *origine nosocomiale s'il y a lieu (sans objet pour la tularémie)*
 - > *identification des diagnostics redondants correspondant à un seul cas*
 - > *représentativité des cas identifiés selon les critères suivants:*
 - > *géographique*
 - > *lieu et mode de prise en charge.*

> *sélection de souches particulières présentant des difficultés d'identification*

Pour les infections peu fréquentes, les centres nationaux de référence doivent inciter les laboratoires à leur adresser l'ensemble des souches isolées en France. Pour le CNR Francisella tularensis, il sera particulièrement demandé : de contribuer à la surveillance épidémiologique des infections tularémiques en liaison avec l'InVS, notamment en renforçant les collaborations et en développant un réseau de surveillance avec les laboratoires hospitaliers et spécialisés et en incitant les laboratoires à leur adresser l'ensemble des souches isolées en France.

Du fait du faible nombre de cas humains référencés actuellement et afin d'obtenir des données aussi exhaustives que possible, la circulaire DGS/SD n°2002/492 du 20 septembre 2002 relative à la transmission obligatoire de données individuelles à l'autorité sanitaire en cas de tularémie organise la surveillance épidémiologique qui repose sur la notification des cas, sur l'envoi de la souche isolée au CNR, pour identification du germe et typage des souches et sur l'envoi du sérum au CNR-LA.

A priori donc, tous les cas de tularémie diagnostiqués en France doivent faire l'objet d'un envoi au CNR de la souche ou de l'extrait d'ADN ; les produits pathologiques pour diagnostic et un ou plusieurs sérums au CNR-LA. Ceci doit permettre une étude complète de l'épidémiologie en France par comparaison de ces données par méthode de capture-recapture avec les déclarations obligatoires centralisées au département maladies infectieuses de l'InVS (responsables Dr Vre Alexandra Mailles, Dr Isabelle Capek, Dr Véronique Vaillant).

Nous avons collaboré pour toutes les suspicions ou cas avec l'InVS et avons incité les laboratoires à adresser les souches ou les suspicions à un des deux centres regroupés au sein du CNR.

Les prélèvements reçus comportent les notions demandées pour la surveillance épidémiologique et obligatoire dans le guide de bonne exécution des analyses (GBEA) qui régit les prises en charges des examens dans les LABM, à l'exception de la notion de cas groupés.

Un échange de correspondances, directes ou par transfert de mails reçus des MISP, des DDASS, des cliniciens ou biologistes, vers les épidémiologistes de l'InVS en charge de la surveillance de la tularémie se fait dès qu'un cas est signalé.

D'autre part, des réunions de travail sont prévues entre nous, CNR et CNR-LA ainsi qu'avec l'InVS.

Des contacts préliminaires ont été pris par le CNR-LA avec les laboratoires spécialisés Pasteur-Cerba et Marcel Mérioux qui acceptent de collaborer à une surveillance centralisée de la tularémie sur des modalités qui restent à définir. Il faut encore identifier les autres laboratoires pratiquant cette sérologie en France pour formaliser ce réseau. Il faut rappeler que le diagnostic sérologique représente le mode de confirmation diagnostique de probablement plus de 90% des tularémies vues en France.

Enfin un cas de tularémie pulmonaire datant de septembre a été signalé fin décembre par le service des Maladies Infectieuses et Tropicales (SMIT) d'un CHU. Ce cas est à rapprocher de deux autres cas de pleuro-pneumonies diagnostiqués antérieurement dans deux autres centres hospitaliers.

Le CNR-LA s'est rapproché des deux SMIT concernés afin d'engager une collaboration pour une publication conjointe de ces trois cas, les trois premiers cas français d'infection pleuro-pulmonaire à notre connaissance. Les conditions de contamination de ces cas sont étudiées avec attention. Un des cas semble en rapport avec des travaux de jardinage en juin sur un terrain en bordure de rivière.

Il faut d'autre part signaler que le LNR en santé animale (à l'époque) a reçu des souches d'origine animale à confirmer, au cours de l'été et de l'automne, de primates non humains, qui présentaient aussi des pleuropneumonies avec septicémies. Les deux souches humaines, précédemment décrites, devraient parvenir au CNR pour qu'une étude comparative soit effectuée avec les souches des primates non humains, d'autant qu'il existe une relative similitude régionale.

Ces cas sont à mettre en parallèle avec les épidémies de tularémie pulmonaire qui éclatent régulièrement en Scandinavie chez les agriculteurs et les populations rurales lors des travaux agricoles et particulièrement le ramassage du foin. Ils sont également à rapprocher de la description aux Etats Unis sur la Côte Est de petites épidémies de tularémie pleuro-pulmonaire dont l'étude épidémiologique par les CDC a pu mettre en évidence qu'elles frappaient particulièrement les jardiniers-paysagistes (landscapers) lors des travaux de tonte du gazon et l'utilisation de turbines (power blowers) (Emerg. Inf. Dis. 2003 Mar; 8 <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol9no3/02-0462.html>). Il nous semble donc important d'investiguer ces cas sur ces étiologies possibles afin de confirmer les travaux américains et d'informer le corps médical français de la survenue de cette forme particulièrement sévère et de diagnostic très difficile de la tularémie sur le territoire français. De plus cette forme clinique peut correspondre à l'une des utilisations malveillantes de la bactérie.

Lors des deux cas ou suspicions de la fin d'année 2002 des informations épidémiologiques ont été demandées aux services hospitaliers et transmis entre CNR et CNR-LA et à l'InVS ainsi que les résultats.

1.2.2. Participation à la surveillance de la résistance des agents pathogènes

La corrélation de la sensibilité in vitro de *Francisella tularensis* avec l'évolution clinique sous traitement n'est pas totalement bonne car c'est une bactérie intra-cellulaire et les tests in vitro étudient principalement l'activité extra-cellulaire des antibiotiques. Le CNR et le CNR-LA pourraient associer dans cette réflexion le Pr. Max Maurin, du laboratoire de microbiologie CHU de Grenoble, spécialiste des bactéries intracellulaires et des techniques très spécialisées d'étude de leurs sensibilités intracellulaires aux antibiotiques. Des contacts ont été pris par le CNR-LA.

Des laboratoires hospitaliers militaires ont pris contact avec le CNR pour effectuer un travail de CMI sur un certain nombre de souches de *Francisella tularensis*, une convention pourrait être établie.

La mise en place de telles collaborations nécessite néanmoins, au préalable, une approbation formelle de la direction de l'Afssa. Le CNR a pratiqué systématiquement des antibiogrammes (méthode des disques en milieu gélosé, validée et publiée) sur les souches isolées. Il n'a pas trouvé de modifications de résistance sur les souches isolées en 2002.

1.2.3. Contribution à la détection et à l'analyse d'infections nosocomiales :

sans objet

1.2.4. Contribution à l'étude de la couverture immunitaire d'une population protégée ou non par un ou plusieurs vaccins et de son évolution :

On ne dispose pas en France des vaccins vivants atténués qui ont été mis au point aux USA et en URSS et la préparation pour intradermo-réaction, la tularine, n'est plus disponible en France depuis l'arrêt de sa commercialisation par l'Institut Pasteur Production vers 1976.

1.2.5. Participation à l'investigation de phénomènes épidémiques (typage de souches, comparaison de souches isolées chez les malades et dans d'autres sources.

Le CNR est en même temps LNR en santé animale et, à ce titre, nous avons été sollicités pour confirmer et identifier un certain nombre de souches animales et nous collaborons au réseau SAGIR (Réseau de Surveillance Active et de Gestion de la faune sauvage), avec la DGAI (Direction Générale de l'Alimentation), avec l'O.I.E. (Office International des Epizooties), et participons au rapport annuel de l'O.M.S. (Organisation Mondiale de la Santé). Toutes les souches animales et la souche humaine isolées sont des *Francisella tularensis biovar holarctica*. En 2002, le LNR a reçu 44 souches de *Francisella tularensis* isolées principalement de lièvres. Nous n'avons pas eu à détecter de souches émergentes particulières qui soient différentes des souches classiquement isolées.

L'antibiotypie (sensibilité et résistance aux anti- infectieux en fonction des biovars) est la même que sur les souches isolées antérieurement et les tests biochimiques sur souches montrent que l'on est toujours en présence du *biovar I* de *Francisella tularensis biovar holarctica*, rencontré en Europe .

Les localisations géographiques ont été étudiées. La souche humaine isolée se trouve dans une région où aucune souche animale n'a été retransmise.

L'extrait envoyé pour PCR (négatif) provient d'une région dans laquelle un certain nombre de souches animales sont régulièrement trouvées et envoyées. Le résultat négatif obtenu n'exclut pas une maladie antérieure au prélèvement et à l'envoi.

Toutes les souches humaines isolées en 2002 ne sont certainement pas parvenues au CNR, vu sa nomination en fin d'année, une incitation à l'envoi sera faite auprès des laboratoires.

Le CNR et le CNR-LA se tiennent prêts à l'investigation de phénomènes épidémiques et ont constitué des stocks de réactifs suffisants pour investiguer au moins une centaine de cas.

1.2.6. Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens.

Pour Francisella tularensis il sera particulièrement demandé de mettre en œuvre des collaborations avec les spécialistes de la tularémie en santé animale (échange d'informations, échanges de souches, comparaison des caractéristiques des souches d'origine humaine et animale, développement d'études en commun, de contribuer aux systèmes de surveillance et aux projets de recherche nationaux (SAGIR), européens et internationaux

Le CNR a participé à la préparation en 2002 d'un workshop organisé en avril 2003 à Copenhague sur les « Zoonoses orphelines » et qui doit aboutir à la constitution progressive d'un réseau MED-VET-NET (Médical et Vétérinaire) de Surveillance et de laboratoires de référence européens. Des contacts

doivent de ce fait, être pris ou repris, entre autres avec T. Mörner du SVA (Suède) (laboratoire de référence de l'O.I.E.). Le CNR apporte son expertise au guide des méthodologies de l'O.I.E.

1.2.7. Contribution à des enquêtes ponctuelles à la demande du ministère chargé de la santé ou de l'Institut de veille sanitaire

Le CNR et le CNR-LA se tiennent prêts à répondre à des enquêtes diligentées par le Ministère ou l'InVS

1.3. Alerte

1.3.1. Signalement de phénomènes anormaux à L'InVS et à la DGS :

- *augmentation d'isolements d'un agent pathogène ou signalement de cas groupés d'une maladie (avec envoi éventuel de relevés d'alerte mensuels ou trimestriels);*
 - *cas isolés d'une maladie rare (peste, choléra, fièvre jaune, poliovirus etc...)*
 - *identification d'un nouvel agent pathogène: apparition de nouvelles formes cliniques ou d'une variation ou mutation d'un agent pathogène connu;*
 - *informations concernant des événements de même nature dans des pays étrangers*
- Pour Francisella tularensis il sera particulièrement demandé de renforcer le rôle d'alerte en signalant à l'InVS et à la DGS toute émergence ou toute augmentation inhabituelle d'isolements ou apparition de cas groupés.*

Il n'a pas été noté de cas groupés dans l'espèce humaine.

Mais l'apparition sur ces deux dernières années de formes pleuro-pulmonaires fait l'objet d'un travail au CNR-LA comme déjà explicité. Cette apparition constatée aussi, par le CNR, chez des Primates à peu près dans la même région demande une attention particulière. Chez ces animaux élevés en semi-captivité, il a été constaté des cas groupés.

Aucun phénomène particulièrement anormal d'émergence ou toute augmentation inhabituelle d'isolements n'ont pu être signalés à l'InVS. Seul le cas et la suspicion ont fait l'objet de transmissions de résultats et d'informations.

1.4. Conseil

Auprès du Ministère de la Santé, de l'InVS, des Agences de Sécurité Sanitaire ou de l'ANAES par :

- > *la participation à l'élaboration de mesures de lutte contre les maladies infectieuses*
- > *la réponse aux demandes d'expertise*
- > *auprès des professionnels (conseil technique)*

Le CNR et le CNR-LA se tiennent prêts à répondre.

Le CNR et le CNR-LA ont participé à l'élaboration d'une fiche technique avec le Ministère de la Santé.

Les deux laboratoires ont donné des conseils ou des informations techniques sur la maladie, les techniques de laboratoire, les précautions de manipulation, les traitements plus spécifiques auprès des professionnels des milieux hospitaliers le plus souvent ou des laboratoires d'analyses médicales.

2. Un retour d'information doit être adressé systématiquement aux laboratoires correspondants :

Pour le CNR, les laboratoires correspondants ont reçu leurs résultats, ainsi que l'InVS et le CNR-LA, ainsi que les informations.

Pour le CNR-LA, après quelques difficultés dues au démarrage d'activité, ce retour d'information est actuellement pratiqué.

Une copie du rapport annuel sera envoyée aux laboratoires correspondants pour rétro-information et les inciter à poursuivre leur collaboration.

OBJECTIFS 2003 – 2004

Pour le CNR-LA

- Tout d'abord l'amélioration des prestations aux laboratoires correspondants,
- Le transfert de la collection de sérums de l'ancien CNR de l'Institut Pasteur,
- L'étude de contrôle de qualité externe comparative des laboratoires peu nombreux qui pratiquent cette sérologie en France, courant 2003.
- L'amélioration de la sensibilité, de la spécificité et de la réactivité et représentativité du système de surveillance en créant, à côté du système de déclaration obligatoire un réseau des laboratoires pratiquant cette sérologie avec signalement rapide des cas diagnostiqués dans ces laboratoires, afin de pouvoir réagir promptement si nécessaire.
- L'évaluation de la concordance entre les deux techniques sérologiques en tube et sur lame avec un seul antigène actuellement commercialisé (formolé) par rapport à la gamme précédente où l'antigène était formolé pour la réaction en tube, mais phénolé pour la réaction sur lame. Une recherche bibliographique est en cours et des tests conduits en fonction des résultats de ces recherches.
- -La mise au point d'une sérologie différenciant les IgG et IgM.(apport diagnostique à revoir)
- Des essais pour rendre à nouveau la tularine disponible comme moyen diagnostique en France
- L'acquisition de souches vaccinales atténuées,
- La formalisation des échanges d'information avec les médecins MISP, les épidémiologistes de l'InVS et les équipes de la DGS,
- La publication des trois premiers cas français de tularémie pulmonaire.

Dans le cadre des activités du CNR pour 2003, hormis les activités d'expertise :

- Il est programmé un rapprochement avec un certain nombre de laboratoires européens dans le cadre du réseau MED.VET et le workshop de Copenhague et ainsi le début d'échanges plus réguliers. Sur le plan national une amélioration de la connaissance des cas animaux sur le territoire en réactivant les contacts avec les agents de l'O.N.C.F.S., les fédérations de chasseurs et en mobilisant un peu plus les laboratoires d'analyses vétérinaires du réseau SAGIR.
- De même, les contacts avec les laboratoires de Biologie Médicale pourront être développés.
- Un certain nombre de publications sont en cours, des conférences sont programmées.
- Seront développés aussi les contacts avec les fabricants de kits et d'automates d'identification qui souhaitent faire rentrer *Francisella tularensis* dans les bases de données de leurs systèmes d'identification, ainsi que la validation de nouvelles méthodes de diagnostic bactériologique.

Pour les deux laboratoires :

- La constitution d'une bibliothèque exhaustive et la diffusion de documents seront poursuivis. Le renforcement des coopérations avec les réseaux et systèmes de surveillance animaux et humains nationaux et internationaux se fera progressivement.
- Au cas où l'équipe du CNR pourrait être renforcée, on pourrait envisager des actions plus structurées sur une meilleure connaissance de la tularémie en France, humaine et animale, les réservoirs éventuels chez les animaux, les vecteurs ou dans l'environnement.
- Des actions de formation continue sont programmées pour les laboratoires d'analyses de biologie médicale d'une part et les laboratoires d'analyses vétérinaires d'autre part.
- Avec l'acquisition d'un matériel de PCR en temps réel, un plus grand nombre de souches et d'échantillons pourraient être analysés tant en humaine qu'en vétérinaire.

