

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année 2015

N° 035

THESE

Pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

DES DE MEDECINE GENERALE

Par

Marc-Antoine LARVOR

Né le 16 février 1986 à Brest (29)

Présentée et soutenue publiquement le 19 Juin 2015

**La Tularémie humaine en Vendée. Analyse de cas Humains diagnostiqués au CHD de
La Roche-sur-Yon entre 2010 et 2015.**

Président : Monsieur le Professeur RAFFI François

Directeur de Thèse : Monsieur le Docteur GUIMARD Thomas

Remerciements

A mon Président de jury, Monsieur le Professeur François RAFFI. Vous me faites l'honneur de présider cette thèse. Je tiens à vous assurer de toute ma considération et de mon profond respect face à votre disponibilité.

A mon Directeur de thèse, Monsieur le Docteur Thomas GUIMARD. Je te remercie sincèrement d'avoir partagé avec moi ce travail de thèse. Je te suis reconnaissant pour l'enthousiasme et la disponibilité avec laquelle tu m'as aidé dans ce projet. Un grand merci pour tout ce que tu m'as transmis au cours de cet internat. Que ce travail témoigne toute ma gratitude et mon amitié sincère.

A Monsieur le Professeur David BOUTOUILLE ainsi qu'à Madame le Docteur Jocelyne CAILLON. Je vous remercie sincèrement d'avoir accepté de vous intéresser à mon travail en participant au Jury de ma thèse. Je tiens à vous assurer de toute ma considération et de mon profond respect.

A Monsieur le Docteur Philippe PERRE. Je te remercie d'avoir accepté de participer à ce jury. Je tiens également à te remercier pour tes précieux enseignements. Que ce travail témoigne toute ma considération et mon amitié.

A Monsieur Philippe NICOLLET, Directeur du Laboratoire de l'Environnement et de l'Alimentation de la Vendée. Merci pour votre participation à ce travail ainsi que pour votre réactivité.

A Madame le Docteur Nora MANDANI, responsable de l'Unité Zoonose au Laboratoire National de référence vétérinaire pour la Tularémie de Maisons-Alfort, pour ses informations et sa disponibilité dans la réalisation de ce travail.

Aux médecins du CNR des *Francisella* de Marseille pour leur expertise et leurs conseils pour ce travail.

A mes parents, pour votre amour et votre soutien durant ces années. Merci pour ce que vous m'avez transmis et votre bienveillance à tous égards.

A mes petites sœurs, pour leur affection et leur joie de vivre. N'oubliez pas « la brume descend », « Les Wendols », « Garland Greene » et autres délires en tout genre ! Stay as you are...

A mes grands-mères, mes oncles et tantes ainsi qu'à toute ma famille.

A vous les mecs, l'équipage du *Yec'hed Mad*, la fine équipe transatlantique, élevée au grade d'amiraux de l'Atlantique Nord. SMB, Arno, Pat (tropical force !), Oliv, bichon, W, malo... Ce travail vous en avez entendu parler à maintes reprises entre deux déferlantes et autres « alertes giclées » ; que ce dernier vous témoigne toute mon affection. Vive la *communauté des potos* and « I respect everybody here... »

A Sarah pour sa bonne humeur contagieuse et ses conseils avisés...

A mes amis, Co-internes et maintenant confrères, les Docteurs Pierre VIGUIER et Thomas DOIZON pour la MPU, vous me faites rêver ! Sans oublier la bienveillance du bon docteur Vincent LIBOIS. Les Docteurs Sophie PERREVE, Cergika VELUPPILLAI et Thomas CUVIER pour la gyn/obs La roche, les spéculums d'or ! La « Blue Team » des Urgences du CHU de NANTES. Les docteurs Sophie ROBIN, Marion GUILLEMOTO et Guillaume AMICO pour les Caïpirinha de l'île d'YEU ! Et à tous ces artistes rencontrés durant ces années d'internat.

Merci aux Dr François VERDON, Claudine LOISEAU et Alain ECHASSERIAU de m'avoir transmis leur savoir en médecine générale et leur amitié. Aux médecins de l'île d'YEU et toute l'équipe du Centre de Santé pour la découverte de cette médecine générale « authentique » !

Et puis merci à toi lecteur, pour l'intérêt que tu porteras sur ce manuscrit. Si certaines critiques te diront que « ce qui est rare en médecine générale n'est que cas d'espèce », tu pourras toi aussi rétorquer que ce sont ces « cas rares » qui marquent l'esprit et qui aiguisent l'appétit de connaissance. Ils permettent ainsi, tout au long d'une vie, de faire de la médecine générale l'une des plus belles médecines...

A mon grand-père...

TABLE DES MATIERES

ABREVIATIONS	7
INTRODUCTION.....	8
REVUE DE LA LITTERATURE.....	9
1. Bactériologie	9
1.1 Rappels sur la bactérie.....	9
1.2 Taxonomie et marqueurs épidémiologiques	10
1.3 Pathogénèse.....	11
2. Réservoirs et vecteurs.....	12
3. Modes de transmission	13
3.1 Transmission par voie cutanéomuqueuse	13
3.2 Transmission par aérosols	13
3.3 Transmission par ingestion.....	14
3.4 Transmission par les arthropodes	14
4. La maladie	16
4.1 Forme ulcéro ganglionnaire.	17
4.2 Forme ganglionnaire	18
4.3 Forme pulmonaire	19
4.4 Forme oropharyngée	20
4.5 Forme oculoganglionnaire.....	21
4.6 Forme typhoïdique ou typhoïde	21
4.7 Bactériémie tularémique ou forme « septicémique ».....	21
4.8 Autres formes cliniques.....	22
4.9 Evolution	22
5. Examens biologiques standards	22

6. Diagnostic microbiologique	23
6.1 Techniques diagnostiques	24
6.2 Stratégie diagnostique	25
7. Traitement	26
8. Epidémiologie Humaine.....	27
8.1 Epidémiologie dans le Monde et en Europe.....	27
8.2 Epidémiologie en France.....	29
9. Epidémiologie Animale.....	31
9.1 Données épidémiologiques mondiales	31
9.2 Données épidémiologiques en France.....	31
9.3 Données épidémiologiques en Vendée	33
10. Justification de l'étude et hypothèses.....	36
MATERIELS ET METHODES	37
1. Présentation générale de l'étude et critères d'inclusion	37
2. Définition des facteurs de risque d'exposition	38
3. Répartition géographique des cas.....	39
RESULTATS	40
1. Répartition des cas humains.....	40
2. Description des cas confirmés.....	42
3. Facteurs de risque d'exposition.....	46
4. Méthodes diagnostiques	47
5. Répartition géographique des Cas-humains de Mars 2010 à Mars 2015	48
6. Analyse des cas-humains versus cas-lièvres de Mars 2010 à Mars 2015	49
7. Analyse des cas-humains 2010-2015 versus cas-lièvre 2004-2015 – Foyers tularémiques	50
DISCUSSION	51
1. Résultats de l'étude	51

2. Limites de l'étude et biais	53
3. Diagnostic par PCR dans le sang	54
4. Tularémie et médecine générale.....	55
CONCLUSION	56
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	57
ANNEXES	60

ABREVIATIONS

ARS : Agence régionale de santé

CDC : Center for Disease – Atlanta - USA

CNR: Centre National de référence des *Francisella*

DIM : Département d'Information Médicale

EWDA : European Wildlife Disease Association

IFI : immunofluorescence indirecte

InVS : Institut national de Veille Sanitaire

LEAV : Laboratoire de l'Environnement et de l'Alimentation de la Vendée

MAG : Microagglutination

MDO : Maladie à Déclaration Obligatoire

MIF : Micro immuno fluorescence

PCR : *Poylmérase Chain Reaction*

SAGIR : « Surveiller pour Agir »

INTRODUCTION

La tularémie est une anthroponose cosmopolite, endémo-épidémique, causée par un petit coccobacille aérobic, *Francisella tularensis*, dont les réservoirs animaux sont nombreux (lièvre, lapin, renard, rat, écureuil, sanglier, etc...). La tularémie est principalement animale atteignant accidentellement l'homme et pouvant lui être mortelle(1). Cette maladie infectieuse contagieuse, est transmise soit par les déjections d'animaux infectés présentes sur le sol ou dans l'eau, soit par les piqûres de certaines espèces de tiques, de taons, de moustiques, soit encore par le contact des dépouilles de gibiers infectés(2). Des cas de contamination en laboratoire ont été rapportés par inoculation ou aérosolisation de *F.tularensis*(3). Cette bactérie est également considérée comme un agent susceptible d'être utilisé à des fins terroristes par aérosolisation(4). Il s'agit de l'une des bactéries les plus infectieuses : l'inoculation ou l'inhalation de 10 à 50 micro-organismes est suffisante pour occasionner la maladie(1).

L'agent de la maladie a été isolé en 1911 à partir de cadavres d'écureuils dans le comté de Tulare (Californie, USA), d'où son nom : la tularémie(5). La bactérie a été observée pour la première fois chez l'Homme aux Etats-Unis en 1914 par Wherry et Lamb. Nommé jusque là *Bacterium tularensis*, l'agent responsable de la tularémie fut rebaptisé *Francisella tularensis* en 1974 en hommage à Edward FRANCIS pour honorer ses travaux sur la maladie publiés en 1921(6).

Actuellement, cette affection survient de façon sporadique chez l'homme aux Etats-Unis, en Europe et en Asie. La maladie est connue sous différents noms : pseudopeste, maladie de Ohara, maladie de Francis, maladie du lièvre, fièvre de la mouche du cerf ou Yato-Byo (Japon).

REVUE DE LA LITTERATURE

1. Bactériologie

1.1 Rappels sur la bactérie

L'agent de la tularémie, *Francisella tularensis*, est un fin coccobacille, aérobic strict, non sporulé, immobile, à Gram négatif. Faiblement catalase positif, oxydase négatif, nitrate réductase négatif, acidifiant lentement et faiblement les sucres sans production de gaz, ne produisant pas d'hydrogène sulfuré en milieu *triple sugar iron (TSI)*, uréase négatif, indole négatif, et n'hydrolysant pas la gélatine. Cette bactérie intracellulaire, est entourée d'une capsule liposaccharidique pour les formes virulentes, qui si elle disparaît s'accompagne d'une perte de virulence. (1)

Mesurant entre 0.2 à 0.7 µm de longueur sur 0.2 µm de diamètre, la bactérie peut survivre à basse température pendant plusieurs semaines dans l'eau, les sols ou des cadavres d'animaux et notamment dans des conditions de températures négatives.(5). Elle résiste à la congélation. Elle est en revanche sensible à la chaleur (10 min à 56°C), aux antiseptiques et aux désinfectants usuels comme l'eau de Javel. Sa résistance est limitée à quelques jours dans un cadavre d'animal à des températures positives. Elle ne supporte pas la compétition avec les germes de la putréfaction : *Proteus*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli* et les bactéries anaérobies. Ceci explique la difficulté de poser un diagnostic de certitude par la détection de la bactérie sur des prélèvements d'animaux morts (7).

La culture est lente à 37°C et difficile en aérobiose. La bactérie pousse sur milieux enrichis en cystéine (gélose chocolat enrichie) et requiert un important inoculum bactérien. Les colonies peuvent pousser jusqu'à 21 jours après l'ensemencement. En atmosphère enrichie avec 5% de CO₂ à 37°C, les incubations sont portées à 5 jours minimum, avec une variation entre les différentes souches. *F.tularensis* peut également être isolée en flacon d'hémoculture. Sa croissance est obtenue habituellement en moins de 5 jours dans les automates d'hémocultures(3).

1.2 Taxonomie et marqueurs épidémiologiques

L'espèce *F.tularensis* a été divisée en quatre sous-espèces, d'après les données microbiologiques, de virulence et épidémiologiques (8) : *F.tularensis* subsp. *Tularensis* (type A), *F. tularensis* subsp. *holarctica* (type B), *F. tularensis* subsp. *mediasitica* et *F. tularensis* Subsp. *novicida*. Les deux premières sous-espèces sont les agents étiologiques principaux de la tularémie dans le monde. Ils appartiennent à la classe 3 des agents pathogènes humains et à la classe A des agents potentiels de bioterrorisme tels que définis par le Center for Disease control and Prévention (CDC, Atlanta, GA, USA). Les souches de type A ont été différenciées initialement des souches de type B par leur capacité à fermenter le glycérol et leur virulence plus élevée chez l'animal et chez l'Homme. De plus, les souches de type B ont été séparées en biovar : le biovar I, naturellement sensible à l'érythromycine est retrouvé en Europe de l'Ouest et en Amérique du Nord ; le biovar II, naturellement résistant à cet antibiotique est retrouvé en Scandinavie, en Europe de l'Est et en Asie. Le biovar III (ou *japonica*) présent exclusivement au Japon, actuellement considéré comme une sous-espèce probable de *F. tularensis*, est à l'origine de formes très bénignes de la maladie(3).

F.tularensis subsp. *tularensis* (type A) peut être hautement virulent chez l'homme et l'animal, et possède une activité citruline uréidase. Le type A n'a jamais été décrit en France, mais a été isolé quasi-exclusivement en Amérique du Nord et dans certains états du sud de la Russie. En l'absence de traitement, ce biovar est responsable d'une mortalité variant de 5% à 60% en fonction des formes cliniques.

F.tularensis subsp. *holarctica* ou *palaeartica* (type B) est moins virulent et ne possède pas d'activité citrulline uréidase. Il est à l'origine de la majorité des cas décrits en Europe, et donc en France, en Asie, mais a également été isolé en Amérique du Nord. La mortalité liée à ce type B est estimée à 1% sans traitement, chutant à moins de 0.5% sous antibiothérapie spécifique(9).

Plus récemment, des méthodes de typage moléculaire ont permis une caractérisation plus détaillée de la diversité génétique au sein des sous-espèces de *F.tularensis*. Les souches de type A sont maintenant séparées en deux clades (AI ou A-Est et AII ou A-ouest) et quatre sous-clades AIa, AIb, AIIa et AIIb. Plusieurs clades sont également reconnues parmi les

souches de type B. Cette nouvelle classification remet en cause la perception dichotomique de la virulence des souches A versus B. En effet, le génotype AIb est considéré comme le plus virulent, mais les souches B (du moins aux Etats-Unis) ont une virulence supérieure à celle des souches AIa et AII.

En Europe, seules les souches de type B sont responsables de cas autochtones de tularémie. Les biovars I et II se trouvent respectivement dans l'Ouest et l'Est du continent. Quelques souches de type A ont été isolées à partir de sources environnementales et d'arthropodes en Slovaquie et en Autriche, sans doute du fait de la propagation accidentelle d'une souche de laboratoire (Schu S4) diffusée mondialement à des fins de recherche ou militaires. En France, seule l'espèce *F.tularensis* susp. *holarctica* (= type B) est retrouvée dans le dans le réservoir sauvage et comme agent étiologique de la tularémie chez l'Homme(3).

F.tularensis subsp. *mediasitica*, retrouvée essentiellement en Asie Centrale et dans certaines régions de la Russie est responsable de formes atténuées de la maladie. Une seule infection humaine bénigne à *F.tularensis* subsp. *novicida* a été décrite en Suisse.

1.3 Pathogénèse

Les organes cibles de la bactérie sont les ganglions lymphatiques, les poumons, la plèvre, la rate, le foie et les reins. Une infection cutanée ou muqueuse non traitée conduit à la multiplication in situ de la bactérie, puis à la dissémination aux aires ganglionnaires de drainage. Une bactériémie peut survenir à ce stade de l'infection (10). *F.tularensis* est une bactérie à développement intracellulaire facultatif. Elle se multiplie dans les macrophages, par inhibition de fusion du phagolysosome. L'examen anatomopathologique des organes infectés montre des lésions suppurées. Les lésions s'organisent ensuite en granulome et l'histologie peut montrer à un stade chronique des granulomes à centre nécrotique, parfois entourés de cellules géantes multi nucléées (11). Les mécanismes intracellulaires de réplication des *Francisella* sont complexes et nombreux, et font toujours actuellement l'objet de nombreuses recherches. Cette réplication était initialement décrite uniquement au sein des macrophages après phagocytose (12). Des données plus récentes ont montré la capacité d'invasion et de réplication des *Francisella* au

sein de cellules non-phagocytaires tels que les hépatocytes(13), ou les cellules de l'épithélium alvéolaire (14)(15).

2. Réservoirs et vecteurs

Le réservoir de *F.tularensis* est représenté par des petits mammifères : rongeurs (écureuils, mulots, campagnols, ragondins) et surtout par les lagomorphes (lièvres). Si le lièvre est considéré comme le réservoir principal de la maladie chez les mammifères, près de 250 espèces de mammifères peuvent être porteuses asymptomatiques de la maladie tels que les sangliers ou les renards (16). Certains animaux domestiques ont été répertoriés comme vecteurs potentiels de la bactérie, en particuliers les chats ou les chiens ayant consommé des rongeurs ou des lièvres infectés.

La bactérie est transmise entre les mammifères par des insectes et arthropodes : tiques, moustiques, puces, punaises, poux et taons. Ces insectes vecteurs de la maladie sont responsables de la persistance de l'infection animale (17). Ces derniers représentent également un mode de transmission possible à l'homme. Il ne faut pas oublier les oiseaux dont le gibier à plumes et certains nécrophages pouvant être sensibles à la bactérie.

Les amphibiens peuvent être porteurs sains, de même que certains protozoaires ainsi que certains crustacés comme les écrevisses (17)(18), ce qui favoriserait la survie du germe dans un cycle aquatique (5), et dont les mécanismes sont à ce jour mal connus (19). Ainsi de nombreux animaux et insectes peuvent être réservoir de la maladie, même si les rongeurs, les lièvres et les tiques en sont les principaux.

L'eau et le sol constituent également des réservoirs important de la bactérie. Ils peuvent être contaminés durablement par les déjections ou les cadavres des animaux infectés.

3. Modes de transmission

Les modes de transmission de la tularémie sont variés. Cependant, à ce jour, aucun cas de transmission interhumaine n'a été rapporté. Le pouvoir infectieux de *F.tularensis* est particulièrement élevé. L'inhalation ou l'introduction intradermique de quelques dizaines de bactéries est suffisante pour provoquer une tularémie. Cette propriété fait de *F.tularensis* une des bactéries les plus infectantes pour l'homme(8)(20).

3.1 Transmission par voie cutanéomuqueuse

Il s'agit du mode de contamination survenant notamment lors de la manipulation de carcasses d'animaux morts ou de leur dépeçage. Les chasseurs y sont particulièrement exposés. La contamination directe peut se faire par voie cutanée, même en l'absence de plaie au travers d'une peau saine. Des contaminations via des coupures occasionnées par des branches d'arbre ou des brins d'herbes sont décrites, avec une probable augmentation du risque d'infection en cas de plaie. Certains cas de contamination humaine ont été décrits par morsures ou griffures de chats infectés. Enfin la transmission par voie conjonctivale après inoculation par des mains souillées est également possible.

3.2 Transmission par aérosols

L'inhalation d'aérosols de bactéries est une voie de contamination possible(11). Ces aérosols pouvant être produits par des poussières de céréales souillées par des cadavres, ou par des déjections de rongeurs contaminés. Ces poussières contaminées peuvent être mises en suspension lors de la manipulation de fourrages, lors de la tonte de gazon ou encore le changement de la litière d'un animal infecté. En 2000, 15 cas de tularémie ont été rapportés dans le Massachusetts, aux Etats-Unis, chez des patients qui avaient tondu leur gazon (10)(19).

En août 2004, dans le département de la Vendée, 15 cas groupés de tularémie ont été répertoriés, chez des patients ayant séjourné une nuit dans un moulin transformé en habitation.

L'aérosolisation de poussières contaminées, survenue suite à la manutention de bois stocké en extérieur vers la pièce principale du moulin, a été le mode de contamination retenu (21). Du fait de la forte contagiosité de la bactérie, l'inoculation accidentelle ou l'inhalation par aérosolisation est bien connue des personnes travaillant en laboratoire. En France entre 2002 et 2012, 4 cas de tularémie ont été décrits chez des patients travaillant en tant que technicien de laboratoire (22).

Enfin, ce mode de transmission serait le plus susceptible d'être observé en cas d'acte de bioterrorisme (23). Une étude Américaine a estimé que l'aérosolisation de 50 kg d'une souche virulente de *F tularensis* sur une ville de 5 millions d'habitants contaminerait 250 000 personnes et provoquerait 19 000 décès (24).

3.3 Transmission par ingestion

La transmission de *F.tularensis* suite à la consommation de viande crue ou insuffisamment cuite provenant d'animaux infectés est possible. L'exemple classique est celui de la femme du chasseur, aux fourneaux, qui goûte la marinade du plat de gibier en cours de cuisson, notamment lorsque la température du plat n'a pas excédé une température suffisante pour détruire la bactérie. L'ingestion d'eau contaminée peut également entraîner la maladie. Il s'agit là encore d'un mode de transmission possible en cas d'acte de bioterrorisme (23), par exemple via la contamination volontaire d'un circuit d'approvisionnement en eau potable d'une grande ville. En 1997, une épidémie de tularémie s'est déclarée près de Smolensk en Russie, suite à une contamination du réseau de distribution d'eau, liée à un défaut de maintenance et d'entretien (25).

3.4 Transmission par les arthropodes

Tiques, moustiques ou taons, eux même contaminés en se nourrissant sur des animaux infectés sont des vecteurs potentiels de contamination indirecte de la bactérie. Ce mode de transmission peut survenir lors de la pratique de sport en plein air en zone forestière tel que le trail ou la randonnée dans des zones endémiques. En France sur les dix dernières années, 19% des cas de tularémie ont été déclarés, suite à la piqûre de tiques et 8% suite à la piqûre d'un

tabanidé (22). Les crustacés sont un réservoir méconnu de *F.tularensis*. L'existence d'un cycle aquatique est supposée mais à l'heure actuelle mal connue (16).

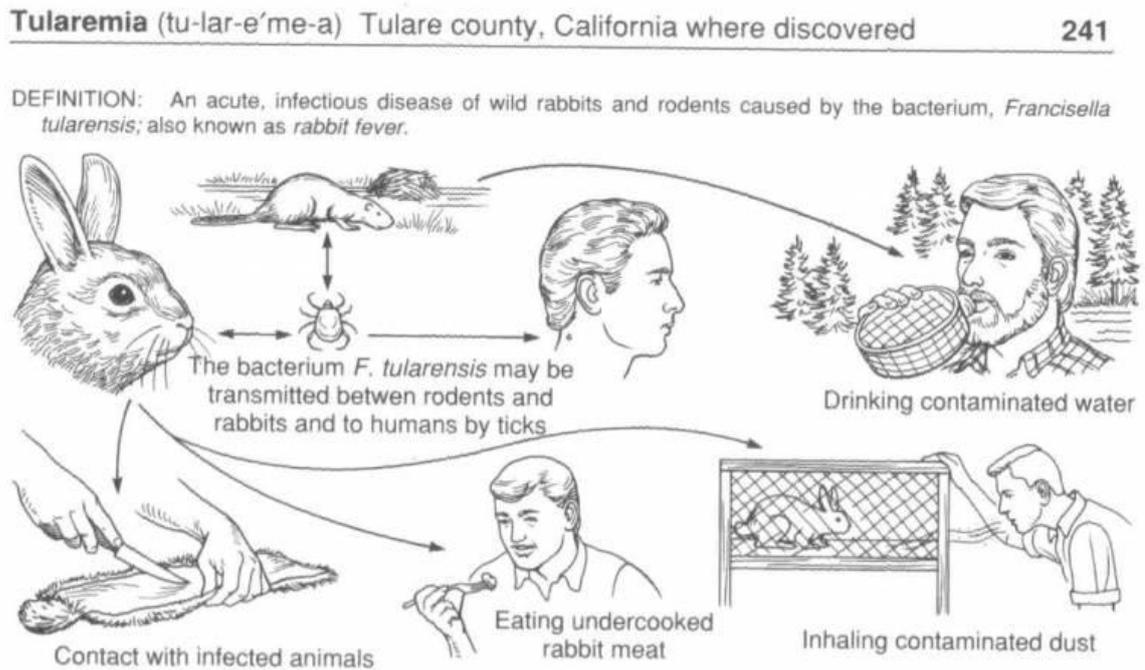


Figure 1 – Résumé des différents modes de transmission de la tularémie – sources : CDC.gov/tularemia

4. La maladie

Les formes cliniques de tularémie varient en termes de sévérité et de présentation clinique en fonction de la virulence de la souche bactérienne, de la dose et du site d'inoculation. Six formes cliniques de tularémie sont décrites : ulcéro-ganglionnaire, ganglionnaire, oculoganglionnaire, oropharyngée, pulmonaire et typhoïdique.

L'incubation est courte de l'ordre de 3 à 5 jours, les extrêmes allant de 1 à 21 jours (20). Le début de l'infection est souvent brutal, se présentant sous la forme d'un syndrome pseudo grippal avec une fièvre élevée à 38-40°C, des frissons, une asthénie marquée, des céphalées, des myalgies diffuses, des arthralgies ainsi que des nausées et des vomissements. Une toux sèche survient fréquemment y compris en l'absence de pneumonie, et des maux de gorges ne sont pas uniquement rencontrés dans la forme oropharyngée de tularémie (cf infra). A ce stade, une dissociation pouls-température est retrouvée dans près de 40% des cas(15). Si le début de la maladie est commun aux tularémies de types A et B (2), il existe une grande variabilité individuelle dans le degré de sévérité de la maladie (20).

Après la phase prodromique, l'évolution de la symptomatologie résulte ensuite de la porte d'entrée de la bactérie. A partir d'une lésion cutanée, la bactérie se multiplie au point d'inoculation, avant de diffuser dans le territoire ganglionnaire de drainage, responsable de l'apparition d'une ou de plusieurs adénopathies. Une dissémination systémique peut ensuite survenir, avec une atteinte multi viscérale. Lors de l'ingestion ou de l'inhalation, la bactérie prolifère au niveau du site d'inoculation (poumon, tractus digestif, oropharynx) pouvant également entraîner secondairement une dissémination systémique. L'évolution varie également selon le type de tularémie avec une mortalité et une sévérité de la forme clinique plus importante pour le Type A (15)(20)(2).

La durée de l'épisode fébrile peut varier de quelques jours à plusieurs semaines, se prolongeant jusqu'à plusieurs mois en l'absence d'antibiotiques avec une altération de l'état général marquée. Sueurs nocturnes, fièvre intermittente avec frissons, faiblesse généralisée, anorexie et perte de poids caractérisent la progression de la maladie sans traitement. Néanmoins, la réponse immunitaire humorale et cellulaire qui apparaît trois à quatre semaines après l'infection permet dans la majorité des cas de maîtriser la multiplication de *F.tularensis* et d'obtenir une guérison spontanée plus ou moins rapide.(6)

4.1 Forme ulcéro ganglionnaire.

Dans les pays Européens, il s'agit de la forme clinique la plus fréquemment rencontrée (75 à 80% des cas). Elle survient après une pique de tiques, ou le contact direct avec un animal infecté lors de la manipulation de carcasse, ou lors d'un contact indirect via les déjections contaminées de ces derniers.

La lésion initiale typique, bien qu'inconstante, est celle d'une papule apparaissant rapidement au site d'inoculation. Cette dernière pouvant être prurigineuse, devient inflammatoire et se transforme rapidement sous la forme d'une pustule qui en se rompant, laissera la place à une lésion ulcérée douloureuse. Habituellement unique et mesurant entre 3 et 5 mm, l'ulcère peut prendre un aspect d'escarre, comparable à la lésion provoquée par une intradermo-réaction par le Bacille de Calmette et Guérin (BCG) (2). Après quelques jours de fièvre, apparaissent ensuite dans le territoire de drainage de volumineuses adénopathies douloureuses et fluctuantes, pouvant secondairement suppurer et fistuliser à la peau, laissant s'écouler un matériel purulent voire caséux. La fistulisation est inconstante. Les adénopathies résultantes de piqures d'arthropodes sont généralement rencontrées aux membres inférieurs (creux inguinal, creux poplité), celles acquises après manipulation de carcasse prédominent aux membres supérieurs (creux axillaire, coude)(7).



Figure 2 - *Ulcère d'inoculation d'une tularémie Ulcéro-Ganglionnaire (Department of of Infectious Diseases, Umeå University, Sweden) – d'après WHO Guidelines on Tularémia (2).*

Lorsqu'une antibiothérapie adaptée est introduite avant 7 jours d'évolution, l'adénopathie pourra disparaître en quelques jours, sans complications ultérieures. En revanche, lorsque le retard à l'instauration du traitement excède 15 jours, le risque de suppuration de l'adénopathie avoisine les 30 à 40% (26)(27). Au-delà de ce délai, la maladie peut continuer d'évoluer et de progresser même lorsqu'une antibiothérapie adaptée a été débutée (26). Néanmoins, dans la majorité des cas, la maladie reste localisée et les complications sont rares. En l'absence d'antibiothérapie, les adénopathies peuvent persister jusqu'à 3 ans(1).



Figure 3 – Adénopathie jugulo-carotidienne droite chez un patient atteint de tularémie ulcéro-ganglionnaire (Department of Infectious Diseases, Umeå University, Sweden). D'après WHO Guidelines on Tularemia (2).

4.2 Forme ganglionnaire

La forme ganglionnaire est caractérisée par la présence d'adénopathies dans un contexte fébrile, sans ulcération cutanée initiale. (5 à 10% des cas de tularémie). Sa physiopathologie est la même que la forme ulcéro-ganglionnaire.

4.3 Forme pulmonaire

La forme pulmonaire résulte de l'inhalation d'aérosols de *F.tularensis* et représente environ 10% des cas de tularémie. Le plus souvent, cette forme survient au décours d'activités agricoles. Cette forme est moins fréquente que la forme ulcéro-ganglionnaire mais concerne tout de même un grand nombre de cas. Les aérosols proviennent le plus souvent de carcasses de rongeurs ou de lagomorphes venant contaminer les sols et les végétaux, après leur mort suite à une tularémie. La forme pulmonaire peut présenter des symptômes de pneumonie, incluant toux, dyspnée et douleur thoracique. Elle peut se manifester par une forte fièvre, et associer d'autres symptômes non spécifiques tels que des diarrhées ou des vomissements. Les symptômes respiratoires peuvent également être absents(2). Cette pneumonie peut être primaire, suite à l'inhalation d'aérosols, ou secondaire à une bactériémie provenant d'une autre porte d'entrée. Dans cette forme pulmonaire, la sévérité de la maladie est nettement plus importante dans le type A par rapport au type B(20).

Dans le type A, la pneumonie primaire est sévère. Parfois décrite comme foudroyante, elle représente les cas les plus graves de la maladie. Avant l'avènement d'antibiotiques adaptés, le taux de mortalité atteignait les 30 à 60% dans cette forme(27)(28). Le début est souvent brutal, avec frissons, fièvre, dyspnée, toux, douleurs thoraciques et sueurs profuses. La toux peut être productive ou non et les patients présentent une altération de l'état général marquée. Une détresse respiratoire peut s'installer(7) et nécessiter le recours à des moyens de réanimation. Cette forme grave de pneumonie peut rappeler la fièvre typhoïde du fait de la sévérité des signes généraux, et de la possible présence de troubles de la conscience similaires à ceux rencontrés dans le tufhos(20)(28). Il n'est cependant pas décrit d'inversion du rythme nyctéméral. Une dissociation pouls-température a été décrite dans près de la moitié des cas de pneumonie tularémique de type A(20), ainsi que dans certains cas de septicémies tularémiques de type B(29)(2). Les signes cliniques de cette forme grave de tularémie est proche de ceux rencontrés dans la septicémie tularémique (cf infra) avec là aussi des signes pouvant rappeler la fièvre typhoïde.

Lorsque la pneumonie est secondaire à une forme ulcéro-ganglionnaire ou ganglionnaire de tularémie de type A, les symptômes de pneumonies peuvent apparaître de 1

à 2 jours jusqu'à plusieurs semaines après le début de la maladie. Il existe là encore une grande variabilité individuelle dans la sévérité des symptômes, mais dans les cas les plus sévères, la symptomatologie pulmonaire prédomine.

La radiographie pulmonaire peut montrer des infiltrats péri-bronchiques qui évoluent typiquement vers une pneumopathie, des épanchements pleuraux et des adénopathies péri-hilaires. Une pneumopathie interstitielle, des lésions cavitaires et des calcifications peuvent être observées. Cependant les signes radiologiques peuvent être minimes, voire absents.

La forme pulmonaire de la tularémie due au type B présente une sémiologie plus frustrée, avec une sévérité moindre (30). Elle est également plus rare ; lors d'une épidémie survenue en Suède durant l'hiver 1966-1967 (30), 140 formes pulmonaires de tularémie ont été décrites. Seuls 7% de ces formes pulmonaires présentaient une symptomatologie pouvant faire évoquer une pneumonie (31). La radiographie pulmonaire peut être normale. Une adénopathie hilare est l'anomalie la plus souvent retrouvée. L'atteinte pulmonaire peut se limiter un infiltrat interstitiel, voire une simple effusion pleurale(32).

Ainsi, la sémiologie radiologique pulmonaire est hautement variable, et pouvant évoquer des infections bactériennes ou fongiques, la tuberculose ou une pathologie tumorale. Le diagnostic de pneumonie tularémique doit être ainsi évoqué devant une pneumonie atypique associée à une ulcération cutanée ou muqueuse et/ou des adénopathies localisées chez un patient ayant des activités en milieu rural(10)(28).

4.4 Forme oropharyngée

Après ingestion d'eau ou d'aliments contaminés, ou par inoculation directe à partir de mains contaminées, cette forme clinique peut se développer. Elle se présente parfois sous la forme d'une stomatite et/ou d'une pharyngite. Le plus souvent il s'agit d'une angine douloureuse fébrile à 39°C, avec fausses membranes amygdaliennes. Un abcès rétro-pharyngé peut survenir. Classiquement l'angine s'accompagne d'une adénite cervicale suppurée, souvent unilatérale, réalisant un tableau de torticolis douloureux. L'ensemble de la symptomatologie est souvent confondu avec une angine à streptocoque du groupe A. Dans ces cas, les patients reçoivent généralement de l'amoxicilline qui n'est pas efficace sur *F.tularensis*. Dans une épidémie turque de tularémie oropharyngée, le diagnostic avait été

retardé, est arrivé conduit à la suppuration des adénopathies cervicales dans 40% des cas (32). Cette forme est retrouvée dans 5 à 10% des cas de tularémie.

4.5 Forme oculoganglionnaire

Cette forme n'est présente que dans 1 à 3% des cas humains décrits (33). Elle survient soit par auto-inoculation par des mains contaminées, soit par contact avec des spores issues de poussières. Les patients présentent une conjonctivite unilatérale fébrile (38.5°-39°C), classiquement décrite sous la forme d'une conjonctivite très inflammatoire et douloureuse, avec des lésions granulomateuses de la conjonctive palpébrale. Photophobie, larmolement et purulence des sécrétions lacrymales sont décrits (34). S'y associent classiquement des adénopathies pré-auriculaires, pouvant être volumineuses et modifier ainsi le contour de la joue (26).

4.6 Forme typhoïdique ou typhoïde

La forme typhoïdique débute brutalement par un syndrome pseudogrippal non spécifique associant diarrhées et vomissement, céphalées, frissons, myalgies et arthralgies, prostration et amaigrissement. Dans cette forme, aucun signe d'orientation ne permet de retrouver la porte d'entrée : il n'existe pas d'atteinte pulmonaire, d'ulcération ni d'adénopathies inflammatoires. Seule la fièvre peut être présente. Cette forme peut faire suite à l'ingestion ou à l'inhalation de *F. tularensis*.(1)(4)

4.7 Bactériémie tularémique ou forme « septicémique »

La bactériémie tularémique est actuellement considérée comme une complication possible des différentes formes de tularémie, bien qu'elle ait été considérée comme une forme clinique à part entière jusqu'à ces dernières années. (1)(15)(3). Toutes les formes de tularémie peuvent se compliquer d'une bactériémie, plus ou moins précocement après le début de la maladie (35), même si dans la plupart des cas rapportés, les patients présentaient d'importantes comorbidités (36). Les signes cliniques ne sont pas spécifiques : fièvre élevée,

douleurs abdominales, diarrhées et vomissements sont souvent décrits. Une dissociation pouls-température est observée dans moins de 50% des cas(4). L'évolution peut être grave vers un choc septique avec coagulation intra-vasculaire disséminée, rhabdomyolyse, défaillance multiviscérale, coma.

4.8 Autres formes cliniques

La tularémie peut se compliquer d'une atteinte de multiples organes. Dans les régions d'endémie pour le type A, des complications grave sont décrites telles que des méningites, des endocardites (37), des défaillances hépatiques (38) et rénales plus ou moins graves. Dans les tularémies de type B, des septicémies (39) et des méningites (40) ont été décrites, avec des issues plus favorables que dans le type A. Par ailleurs, des manifestations cutanées auto-immunes sont parfois observées dans la tularémie, comme l'érythème noueux ou l'érythème polymorphe (41).

4.9 Evolution

En l'absence d'une antibiothérapie adaptée, la mortalité globale pour les infections dues au type A est de 8% (5 à 15%). Elle avoisine les 4% pour la forme ulcéroganglionnaire et atteint 30 à 50% pour les formes typhoïdiques, septicémiques et pulmonaires(4). Lorsqu'une antibiothérapie adaptée est introduite, la mortalité est inférieure à 1% dans le type A. Les décès imputables au type B sont exceptionnels (10). Ainsi, bien que rarement fatale, la tularémie impose une hospitalisation dans environ 30% des cas, précoce du fait de la gravité des manifestations cliniques, ou plus tardive pour la prise en charge des complications (adénopathies suppurées notamment)(6).

5. Examens biologiques standards

Aucun examen de biochimie sanguine de routine n'est spécifique de la tularémie. Dans une épidémie de tularémie survenue dans l'Arkansas aux USA, l'étude de 88 patients retrouvait un taux de leucocytes sanguins circulants situé entre 5000 et 22000 éléments/mm³

(médiane 10400/mm³) avec une prépondérance pour la lignée lymphocytaire. Une cytolysse hépatique modérée était observée de 1,5 à 2 fois la normale (15).

Dans une étude épidémiologique suédoise de tularémie de type B (42), le taux moyen de leucocytes était légèrement inférieur à 8.300 élément/ mm³. Les valeurs de protéine C réactive (CRP) étaient généralement moindres à celles attendues pour une infection bactérienne invasive avec un taux moyen de 53 mg/L. Les vitesses de sédimentations étaient augmentées entre 30 à 50 mm/h dans la première semaine, et se sont maintenues élevées pendant toute la durée du premier mois.

6. Diagnostic microbiologique

Les prélèvements à effectuer permettant un diagnostic microbiologique sont les suivants :

- Prélèvement à l'écouvillon au point d'inoculation
- Ponction à l'aiguille d'une adénopathie
- Prélèvement d'exsudats oculaires ou pharyngés
- Examen des crachats, du liquide pleural
- Sang prélevé pour flacons d'hémocultures ou pour PCR

Il est nécessaire de prévenir le laboratoire de la suspicion de diagnostic de tularémie en vue d'un ensemencement sur milieux spécifiques et de permettre une manipulation des liquides biologiques avec précaution en raison du risque de contamination. En effet, *F.tularensis* est une bactérie hautement infectieuse, de classe 3 de risque biologique et considérée comme un agent de classe A de la menace par le CDC (Centers for diseases Control and Prevention, USA). Sa culture doit être réalisée impérativement en laboratoire de niveau 3 de sécurité biologique (NSB3) (3). En France, dans le contexte de la préparation à la réponse contre une éventuelle action malveillante (plan de prévention des risques nucléaires, radiologiques, biologiques et chimiques (NRBC)), la surveillance nationale de la tularémie a été mise en place en 2002. La tularémie est ainsi devenue une Maladie à Déclaration Obligatoire (MDO) et un Centre National de Référence (CNR) a été nommé afin d'expertiser les souches de *Francisella* isolées des échantillons biologiques des patients (22).

Le CNR des *Francisella* est composé d'un CNR coordinateur situé au CHU de Marseille (directeur Pr Bernard LA SCOLA) et d'un laboratoire associé (CNR-LA) situé au CHU de Grenoble (directeur Pr Max MAURIN). Leurs missions principales consistent en une centralisation des prélèvements suspects de tularémie en vue d'une expertise diagnostique dans des conditions de sécurité de niveau NSB3.

6.1 Techniques diagnostiques

Trois types de techniques sont actuellement utilisés dans les CNR pour le diagnostic de tularémie : l'isolement en culture de *F. tularensis*, des techniques sérologiques et des techniques d'amplification génique (PCR et PCR en temps réel)(9).

La culture est la seule méthode permettant de confirmer avec certitude une suspicion de tularémie. *F. tularensis* est une bactérie de croissance fastidieuse nécessitant pour sa croissance un milieu enrichi en cystéine. Les milieux gélosés de type chocolat enrichi sont utilisés en laboratoires diagnostiques. Ces milieux sont incubés en aérobiose, à 37°C en atmosphère enrichie avec 5% de CO₂, pendant un minimum de 5 jours. Quelques souches peuvent nécessiter une incubation plus longue pour leur isolement. *F.tularensis* peut également être isolée en flacon d'hémoculture. Sa croissance est obtenue habituellement en moins de 5 jours dans les automates d'hémocultures actuels. L'isolement d'une souche de *F. tularensis* n'est cependant obtenu en moyenne que chez 10 à 20% des patients infectés, ce qui limite l'intérêt diagnostique de cette technique. Néanmoins, la culture permet d'identifier précisément l'espèce et la sous-espèce en cause, réaliser un génotypage et surveiller la sensibilité aux antibiotiques.

Du fait du manque de sensibilité de la culture, le diagnostic de tularémie est le plus souvent confirmé par des techniques sérologiques. Les techniques utilisées sont la microagglutination (MAG), l'immunofluorescence indirecte (IFI) et les tests de type ELISA. La technique la plus utilisée est celle de microimmunofluorescence (MIF). Le CNR a défini un seuil de positivité à 1 :160 en IgG et 1 :80 en IgM, avec une valeur prédictive positive supérieure à 95%. Ces titres ne sont atteints qu'après deux à trois semaines d'évolution de la maladie. Des faux négatifs sont donc fréquemment observés en début de maladie. Les titres maximaux s'observent ensuite quatre à six semaines après l'infection et restent stables plusieurs

semaines. Des taux résiduels d'anticorps peuvent persister plusieurs mois à plusieurs années après l'infection, mais le plus souvent à des titres faibles(6).

Plusieurs tests sont utilisables pour le diagnostic moléculaire pour détecter l'ADN de *F. tularensis*. Il s'agit de tests de PCR en temps réel, permettant d'amplifier l'ADN de toute *F. tularensis* à partir de divers prélèvements cliniques : sang, sérum, lésion cutanée, ganglion, prélèvement conjonctival, liquide céphalo-rachidien, etc...Trois tests différents de PCR en temps réel sont utilisés dans les CNR. Des méthodes moléculaires sont également utilisées dans le cadre de l'identification des souches reçues dans les laboratoires.

6.2 Stratégie diagnostique

La stratégie diagnostique de la tularémie varie en fonction de la forme clinique et de l'ancienneté du début de la symptomatologie. Lorsqu'il s'agit des formes ulcéro-ganglionnaires et ganglionnaires, la consultation des patients est souvent tardive après le début de la maladie, c'est-à-dire après le délai de séroconversion. Le diagnostic pourra donc être posé facilement par la sérologie. En revanche, lorsque la prise en charge est précoce, notamment dans les formes douloureuses occuloganglionnaire et oropharyngée, le délai de séroconversion peut ne pas être atteint. Ainsi la détection de *F.tularensis* par culture et/ou PCR dans un exsudat conjonctival ou oropharyngé peut être obtenue facilement. Dans les formes systémiques pulmonaires et typhoïdiques, le diagnostic repose sur les hémocultures en phase aiguë puis sur la sérologie. La PCR sur prélèvement de sang peut être utile en phase aiguë, avant la séroconversion. Plus tardivement, elle permettra la détection de la bactérie sur prélèvements de ganglions profonds (médiastinaux, abdominaux, ect...), en association avec la culture(6).

7. Traitement

Malgré les progrès des antibiotiques au cours des dernières décennies, la tularémie de type A est encore parfois associée à une issue fatale. La tularémie de type B, bien que beaucoup moins virulente que le type A, est fréquemment associée à des complications suppurées et une longue période de convalescence. Chez les patients présentant une fièvre prolongée d'origine inconnue, une antibiothérapie empirique par des bétalactamines est souvent initiée. Toutefois, ces antibiotiques n'affectent pas *F. tularensis* et n'auront donc aucun effet sur le cours de la maladie. Actuellement, aucun vaccin contre la tularémie n'est disponible. La reconnaissance précoce et le traitement antibiotique approprié sont essentiels(2).

Chez l'adulte, la streptomycine et la gentamicine (3mg/kg/jour voie intraveineuse) représentent le traitement historique de première intention des tularémies graves (43). La durée de ces traitements est de 10 jours. Les fluoroquinolones représentent une excellente alternative aux aminosides permettant une administration per os : ainsi la ciprofloxacine 500mg x2/jour ou l'ofloxacine 200mg x2/jour peuvent être administrées pour une durée de 15 jours. Les Cyclines et le chloramphénicol ont été signalés comme pouvant être associés à un risque de rechute. Ils doivent être prescrits au minimum 14 à 21 jours (2). Chez l'enfant avant 8ans, la ciprofloxacine 20 à 30mg/kg par jour pendant deux semaines est le traitement de première intention. La gentamicine IV est également réservée aux formes sévères(6).

La streptomycine, la gentamicine, la doxycycline sont recommandées en prophylaxie d'une exposition à un aérosol de *F. tularensis*. La durée de la prophylaxie est de 14 jours. La doxycycline semble être le traitement prophylactique le plus approprié du fait de sa voie d'administration per os, contrairement à la streptomycine et la gentamicine.

8. Epidémiologie Humaine

8.1 Epidémiologie dans le Monde et en Europe

La tularémie est retrouvée dans de nombreux pays de l'hémisphère Nord (Amérique du nord, Europe, Asie centrale). Elle n'a jusqu'à présent pas été décrite dans l'hémisphère sud.



Figure 4 - Distribution géographique mondiale de la Tularémie indiquée en gris. Carte reproduite depuis « The WHO Guidelines on Tularemia » - World Health Organization(2) – d'après les données de la littérature médicale de 1952 à 2006. (Anders Johansson, Umeå University, Umeå, Sweden et De Carvalho et al., 2007)

Sur le continent Américain, des cas de tularémie surviennent fréquemment aux Etats-Unis et au Canada. Quelques cas ont été rapportés au Mexique. Aux Etats-Unis, une moyenne de 120 cas par an a été recensée entre 1990 et 2000. Ceux-ci sont principalement observés dans les états du centre, du sud et de l'ouest du pays, avec plus de 50% des cas survenus dans l'Arkansas, le Missouri, le Dakota du Sud et l'Oklahoma. Des petits foyers épidémiques ont été signalés à plusieurs reprises sur l'île de Martha's Vineyard dans le Massachusetts (19).

En Europe, tous les pays rapportent chaque année des cas de tularémie. Seul le Royaume-Uni semble épargné par la maladie. La Suède et la Finlande sont les pays les plus touchés, avec pour la Suède la plus large épidémie jamais décrite, impliquant plus de 2700 personnes entre 1966 et 1967 (30)(40) et plus de 6000 cas humains rapportés depuis la première description de la maladie dans le pays en 1931. La maladie évolue sur le mode endémo-épidémique avec une très grande variabilité de l'incidence de la maladie d'années en années, allant de quelques cas par an jusqu'à plus de 2700 cas lors de l'épidémie de 1967(16). Des foyers endémiques existent depuis longtemps dans la Fédération de Russie (25), le Kazakhstan et le Turkménistan. Des cas ont été recensés en Turquie (32), en Yougoslavie ainsi qu'au Kosovo (44).

L'Espagne est devenue récemment une zone d'endémie. La tularémie humaine, alors virtuellement inconnue dans le pays jusqu'en 1996, est apparue sous la forme d'une épidémie inaugurale en affectant 559 personnes dans la province de Valladolid dans le nord ouest de l'Espagne, entre octobre 1997 et mars 1998 (45). L'ensemble des cas étaient secondaires à la manipulation de lièvres infectés au décours d'activités de chasse. Quelques mois plus tard, en Août 1998, une épidémie de tularémie a été enregistrée en Castilla la Mancha dans la province de Cuenca. Dix-neuf cas de tularémie humaine ont été décrits en 15 jours chez des pêcheurs, parallèlement à une épizootie chez des écrevisses. La contamination des écrevisses semblait alors due à la présence dans les rivières de cadavres de campagnols atteints par la tularémie. La contamination à l'homme serait survenue par contact avec des carapaces contaminées (17). Dans les années antérieures à ces épidémies humaines espagnoles, une augmentation de la mortalité chez les lièvres avait été constatée entre 1994 et 1997 dans la région de Castilla y León. Rétrospectivement, la faculté des sciences vétérinaires de Zaragoza a montré que cette hausse de la mortalité chez les lièvres était due à une épizootie de tularémie(46). Le mystère reste néanmoins entier sur l'apparition de cette maladie en Espagne. Certaines études sérologiques rétrospectives chez l'homme, ont montré l'existence de cas humains sporadiques dans cette même région avant l'épidémie de 1997. Les raisons de cette flambée de cas chez l'animal et chez l'Homme sont toujours à ce jour méconnues.

8.2 Epidémiologie en France

En France, le premier cas de tularémie a été rapporté en 1946 dans le Doubs. Quelques dizaines de cas de tularémie sont déclarés en France chaque année. Son incidence est actuellement estimée à 50 cas par an. Seule *F. tularensis* subsp *holarctica* (type B) est responsable des formes cliniques observées. La maladie est sporadique sur l'ensemble du territoire, avec cependant une majorité de cas répertoriés dans le nord-est et le centre ouest de la France. La tularémie est plus rare en Bretagne, dans les Landes et les départements méditerranéens.

Incidence des cas de tularémie déclarés par région de résidence en France de 2002 à 2012

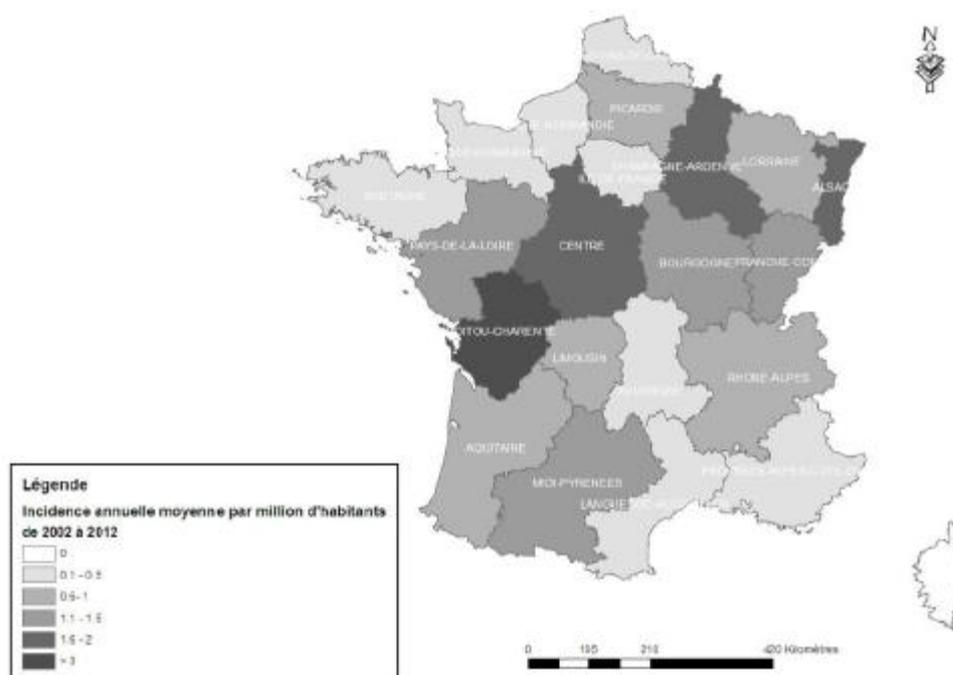


Figure 5 – Bilan de 10 années de surveillance de la tularémie chez l'homme en France – InVS – A. Mailles, V. Vaillant.(22)

En France, la tularémie est presque exclusivement une maladie rurale. En dehors des rares cas observés chez des consommateurs de viandes contaminées peu ou mal cuites, les personnes exposées sont surtout des chasseurs ou leurs épouses appelées à dépecer ou à cuisiner les animaux, les gardes chasse, les gardes forestiers, les cultivateurs et les bouchers-

charcutiers. En France le pic d'incidence apparait principalement en hiver, au cours de la saison de chasse(1).

Depuis 2002, la déclaration obligatoire de la tularémie en France a permis une surveillance accrue de la maladie. Du 1^{er} octobre 2002 au 31 décembre 2012, 433 cas de tularémie ont été diagnostiqués et déclarés en France, soit une incidence moyenne de 0.07 cas pour 100 000 habitants. Parmi les 433 cas déclarés, 395 étaient des cas sporadiques et 39 (9%) appartenaient à 10 épisodes de cas groupés (22). L'incidence moyenne la plus élevée pour la période de 10 ans était enregistrée en Poitou-Charentes (3.2/an/million d'habitant), suivi de la région Centre, de l'Alsace et de la Champagne-Ardenne.

Les formes cliniques les plus fréquentes parmi les cas déclarés étaient des tularémies ganglionnaires (46%) et ulcéro-ganglionnaires (26%). Cette prédominance était enregistrée pour toutes les années de surveillance. Les formes cliniques typhoïdiques (10%), pulmonaires (10%), oropharyngées (6%) et oculoganglionnaires (2%) étaient plus rares.

L'origine la plus probable de contamination a été l'exposition à un lièvre pour 41% des cas, le sport de plein air pour 24%, une morsure de tique pour 16% des cas recensés.

9. Epidémiologie Animale

9.1 Données épidémiologiques mondiales

Nous avons vu plus haut que le réservoir animal était important, et qu'il s'étendait bien au-delà d'une affection uniquement présente chez le lièvre comme le suggère la croyance populaire. Les arthropodes, les mammifères et le sol lui-même constituent un réservoir important dont il est difficile d'évaluer l'ampleur.

Concernant les Arthropodes, des investigations portant sur 120 000 tiques du genre *Ixodes ricinus* dans le Nord-Ouest de l'ex-union soviétique entre 1960 et 1964 retrouvaient une prévalence des tiques infectés d'environ 0.01% (Olsufiev & Dunayeva, 1970). En Europe centrale, des tiques du genre *Dermacentor reticulatus* et *Ixodes ricinus* sont des vecteurs importants. Dans certaines zones autrichiennes et en République Tchèque, la prévalence de *F. tularensis* est estimée à environ 2% (Hubalek et al, 1997). En Finlande et en Suède, les études cliniques et épidémiologiques suggèrent le rôle prépondérant des moustiques dans le développement des différentes épidémies, notamment *A. cireneus*. De même, de nombreuses études évoquent le rôle de certaines espèces de mouches hématophages (*Tabanus spp* et *Chrysozona spp.*). Vingt espèces de puces ont été répertoriées comme étant porteuses potentielles. Néanmoins, les mécanismes de transmission sont encore mal connus, notamment chez les moustiques et les mouches hématophages, où la présence de *F. tularensis* n'a à ce jour jamais pu être isolée dans les glandes salivaires de ces espèces. La théorie actuellement admise est celle d'une transmission « mécanique » par la contamination de pièces buccales quand une mouche ou un moustique mord un hôte infecté(2).

9.2 Données épidémiologiques en France

En France, l'activité de la tularémie chez l'animal est essentiellement portée sur la surveillance de la maladie chez le lièvre via le Réseau SAGIR (« Surveiller pour Agir »).

SAGIR est un réseau de surveillance épidémiologique des oiseaux et des mammifères sauvages terrestres en France. Cette surveillance, fondée sur un partenariat constant entre les Fédérations des Chasseurs et l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, s'exerce depuis 1955, s'est consolidée en 1972 et a pris la dimension actuelle en 1986 sous le nom de SAGIR.

La surveillance repose sur un réseau d'observateurs de terrain, principalement des chasseurs, des techniciens des Fédérations départementales des chasseurs et des agents de l'ONCFS. Ces observateurs sont coordonnés par deux interlocuteurs techniques spécialisés dans chaque département, l'un de la Fédération départementale des chasseurs et l'autre de l'ONCFS.

Les animaux sauvages trouvés morts ou malades sont transportés par des personnes qui disposent d'une autorisation spéciale du ministère en charge de l'environnement jusqu'au laboratoire départemental d'analyses vétérinaires où est réalisé l'autopsie afin de poser un diagnostic. Certaines analyses particulières sont effectuées par des laboratoires spécialisés qui viennent en appui aux laboratoires de proximité. L'ensemble des résultats est intégré dans une base de données nationale collectée par un Laboratoire National de référence. Pour la tularémie animale, ce dernier est situé à Maisons Alfort en région parisienne. (Unité Zoonoses Bactériennes, Responsable : Nora MANDANI)(47)

Concernant la tularémie chez le lièvre, l'étude des données du réseau SAGIR via le laboratoire vétérinaire National de référence, a permis lors d'une étude rétrospective la mise en évidence de 435 foyers de tularémie chez des lièvres qui ont été répertoriés dans 47 départements différents et dans plus de 400 communes en France entre 1993 et 2004. (Vessaire et al, 2005)(7). Chaque année, il y a réapparition de la maladie dans ces zones quelquefois dans les mêmes communes, mais le plus souvent dans d'autres zones d'une même région. Les auteurs précisait alors, que l'espèce contrôlée dans cette étude était le lièvre, bien que d'autres espèces et des vecteurs soient atteints ou porteurs de l'agent. Parallèlement à cette étude vétérinaire, les auteurs se sont également penchés sur la survenue des cas humains sur les territoires concernés entre 2003 et 2004. Une trentaine de cas humains avait alors été recensée. Ces cas se situaient particulièrement dans les zones où les foyers animaux étaient les plus nombreux, mais avec néanmoins « l'existence de cas humain dans des zones où aucun animal n'avait été rapporté ».

Les données les plus récentes concernant l'activité de la maladie chez le lièvre sont en cours d'analyse, et feront l'objet d'une publication courant 2015 par le Laboratoire National de Référence vétérinaire pour la Tularémie de Maisons-Alfort. Les données brutes ont été présentées par ce dernier à la 11ème conférence de l'EWDA (European Wildlife Disease Association) à Edinburgh (Ecosse), en Août 2014 [voir en annexe 1].

En comparaison avec la précédente étude réalisée lors de la dernière décennie (Vessaire et al, 2005), les résultats de la surveillance entre 2003 et 2013 ont montré une augmentation à la fois du nombre de cas recensés chez les lièvres (739 vs 435) et du nombre de départements touchés (63 vs 47). Dans leur conclusion, les auteurs expliquent leurs résultats par une meilleure détection de la tularémie chez l'animal grâce au recours systématique des tests par PCR sur splénectomie des animaux morts. Cette méthode par PCR paraît plus appropriée que les méthodes bactériologiques conventionnelles, en raison de leur manque de sensibilité pour la détection de la tularémie dans l'environnement. En revanche, l'accroissement des zones géographiques touchées demeurent inexpliqué. Les auteurs soulignent ici le besoin de recours à d'autres études éco-épidémiologiques afin de mieux comprendre le cycle épidémiologique de la tularémie et de permettre la détection de zones à risque pour une meilleure prévention de la transmission à l'Homme.

9.3 Données épidémiologiques en Vendée

Le Laboratoire de l'Environnement et de l'Alimentation de la Vendée (LEAV) situé à la Roche-sur-Yon, participe dans le réseau SAGIR à la surveillance de l'activité de la tularémie animale en Vendée, par l'autopsie de lièvres. Ces derniers sont soit retrouvés morts en forêt par des agents de l'ONCF, soit « tirés » par des chasseurs sensibilisés par leur fédération de chasse à la surveillance des zoonoses. Certains chasseurs livrent donc à titre gratuit un échantillon des animaux abattus pour permettre leur autopsie. Cette dernière consiste en une première étape visuelle à la recherche d'une splénomégalie, signe de tularémie chez le lièvre (figure 6). La rate suspecte est ensuite conditionnée puis transportée au laboratoire de référence en vue d'une analyse par PCR et d'une mise en culture.

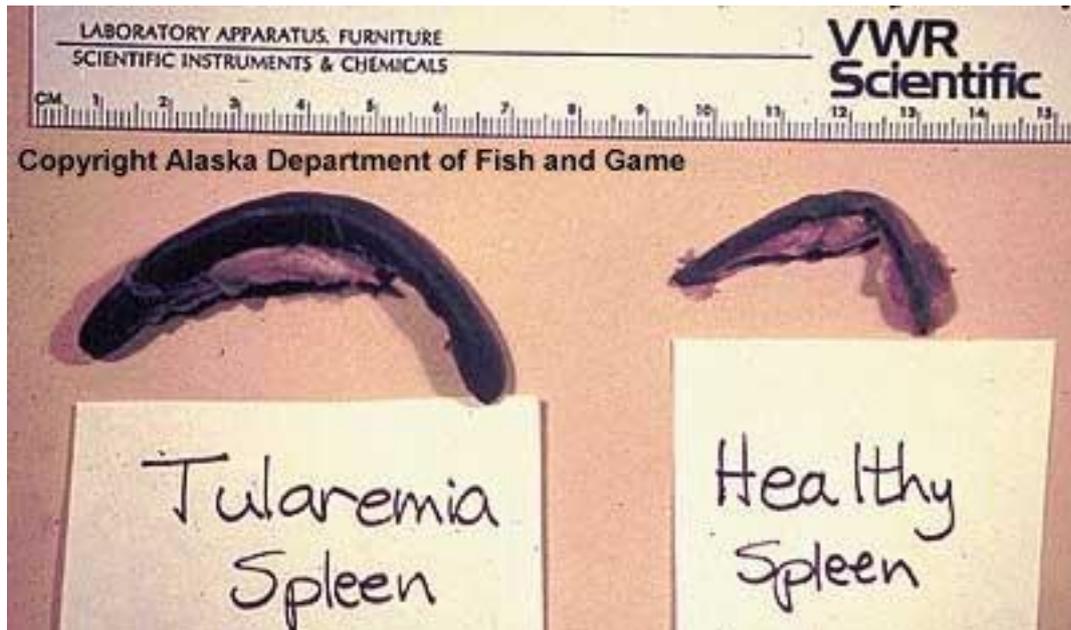


Figure 6 - exérèse d'une rate de lièvre « tularémique » (à gauche) dite en « cigare ». Rate de lièvre saine (à droite). Sources : Alaska Department of Fish and Game.

Entre 2002 et 2014, 702 lièvres ont été analysés par le LEAV. Trente-trois cas de tularémie ont été recensés (5%). La distribution géographique des cas sont répartis sur la carte ci-dessous. (Figure 7)



Figure 7 - Répartition des cas de tularémie rapportés chez le lièvre de Mars 2004 à Mars 2015. Carte produite d'après les données fournies par le LEAV de La Roche-sur-Yon (voir en annexes 2 et 3)

10. Justification de l'étude et hypothèses

Ces dernières années, un nombre croissant de cas de tularémie a été diagnostiqué au CHD de la Roche-sur-Yon, chez des individus résidant tous en Vendée au moment du diagnostic. L'objectif de ce travail de thèse était de faire un point épidémiologique sur l'activité de la maladie chez l'homme à l'échelon départemental, en se penchant notamment sur les différentes formes cliniques diagnostiquées, ainsi que sur la répartition géographique des différents cas-humains. Nous avons donc cherché à travailler à partir de cartes, sur l'origine géographique des différents cas diagnostiqués, en cherchant l'existence ou non, de zones « hyper endémiques » départementales.

Par ailleurs, la maladie est connue pour sévir au moment de la période de chasse, là où les chasseurs sont en contact direct avec les lièvres qu'ils abattent. Nous nous sommes donc demandés si la répartition géographique des cas humains était superposable aux cas répertoriés chez les lièvres. En effet, d'après certaines études vétérinaires (Vessaire et al), il semblerait que la survenue de cas humains ne soit pas obligatoirement corrélée à la survenue de cas chez le lièvre. De plus, l'espèce lièvre « ne serait que le reflet de l'activité de la maladie, au sein d'un réservoir animal bien plus grand» (Moinet et al, Vessaire et al(7)). Ainsi, nous avons donc tenté de vérifier si l'étude de la maladie chez le lièvre pouvait prédire ou non la survenue de cas Humains, et si la surveillance de la maladie chez les lagomorphes paraissait pertinente dans le cadre d'une surveillance de la maladie pour l'Homme.

MATERIELS ET METHODES

1. Présentation générale de l'étude et critères d'inclusion

Nous avons effectué une étude épidémiologique descriptive et rétrospective des cas de tularémie, diagnostiqués au CHD de la Roche-sur-Yon entre le 1^{er} Mars 2010 et le 1^{er} Mars 2015. Tous les patients étudiés ont été soit hospitalisés, soit vus en consultation pour suspicion de tularémie. Ces derniers sont définis comme « cas suspects » de tularémie. Le recueil de l'identité des patients suspects de tularémie a été permis par l'analyse des données nominatives du DIM (Département d'information médicale du CHD) et des listes de patients fournies par le CNR des *Francisella* de Marseille, pour lesquels le diagnostic de tularémie a été évoqué.

A partir de l'identité des patients, la lecture des comptes-rendus d'hospitalisation et/ou de consultations du CHD a permis une première analyse. Pour chaque patient étaient relevés la forme clinique de tularémie, l'existence d'un facteur de risque d'exposition, la méthode diagnostique employée, l'existence ou non d'une fièvre supérieure à 38,5°C ainsi que le nom de la commune de résidence au moment du diagnostic.

Cette première analyse a été complétée avec données fournies par le CNR, sous la forme d'une fiche nominative, où étaient notifiés pour chaque patient : les données du diagnostic sérologique et/ou par PCR, ainsi que quelques éléments anamnestiques principaux tels que les facteurs de risque d'exposition, la forme clinique de tularémie et un bref descriptif de l'état clinique.

L'existence d'un tableau clinique fortement évocateur d'une tularémie, définissait des « cas possibles » de tularémie, en l'absence d'un diagnostic différentiel retenu pour ces patients. Les patients pour lesquels un autre diagnostic que celui de tularémie avait été retenu étaient exclus.

Les « cas possibles » étaient ensuite répartis en 2 groupes de « cas confirmés » et de « cas-probables » selon l'existence ou non d'une preuve sérologique associée à un tableau clinique évocateur. Seuls les « cas confirmés » étaient inclus.

2. Définition des facteurs de risque d'exposition

Pour chaque cas confirmé, nous avons tenté de déterminer l'origine la plus probable de sa contamination, à partir des données recueillies. Nous avons utilisé la même méthode de détermination que celle employée par l'InVS dans ses publications de surveillance décennale(22). En France, la manipulation, le dépeçage et l'éviscération des lièvres sont connus comme étant la source d'infection la plus fréquente. Ainsi, si un patient infecté par *F.tularensis* rapportait un contact direct avec un lièvre durant la période d'exposition étudiée, cette exposition était considérée comme l'origine la plus probable de l'infection.

Si un patient infecté par *F.tularensis* rapportait une piqûre de tique, cette piqûre était considérée comme la source la plus probable d'infection, sauf si le patient rapportait aussi un contact direct avec un lièvre.

Si un patient exerçait une profession l'exposant potentiellement à *F.tularensis* (agriculteur, agent forestier, vétérinaire, technicien de laboratoire), sa profession était considérée comme la circonstance la plus probable d'infection sauf s'il rapportait également un contact direct avec un lièvre ou une piqûre de tique.

Si un patient avait des loisirs de plein air l'exposant potentiellement à *F.tularensis* pendant la période d'exposition, ses loisirs étaient considérés comme l'origine la plus probable de son infection, sauf s'il rapportait également un contact direct avec un lièvre ou une piqûre de tique, ou l'exercice d'une profession à risque.

Si un patient avait été en contact avec un mammifère réservoir autre que le lièvre pendant la période d'exposition, ce dernier était considéré comme l'origine la plus probable de contamination, sauf s'il rapportait un autre facteur de risque d'exposition tel que ceux cités plus haut.

Enfin, si un patient rapportait une plaie occasionnée par des végétaux dans les jours précédant le début de la symptomatologie, elle était considérée comme l'origine la plus probable de contamination, sauf s'il rapportait un autre facteur favorisant.

3. Répartition géographique des cas

Afin d'étayer notre hypothèse sur l'existence ou non de clusters hyperendémiques humains, et plus généralement sur la distribution géographique des cas de tularémie, nous avons reporté les « Cas Confirmés » humains sur une carte à l'échelle du département de la Vendée, à partir du lieu de résidence du patient au moment du diagnostic. L'hypothèse étant que le lieu de contamination de chaque patient se situe aux alentours du lieu d'habitation.

Nous avons défini un « foyer humain » de tularémie, comme une zone restreinte où au moins 3 cas de tularémie humaine ont été diagnostiqués entre mars 2010 et mars 2015.

Dans un second temps, nous avons reporté sur cette même carte les cas de tularémie rapportés chez le lièvre d'après les données fournies par le LEAV pour la même période allant de Mars 2010 à Mars 2015. Cette dernière a pour but de montrer l'existence ou non d'une superposition entre les « cas confirmés » humains et les cas relevés chez le lièvre.

Enfin, et toujours sur ce même fond de carte, nous avons fait figurer les cas rapportés chez le lièvre sur une période allant de mars 2004 à Mars 2015. L'élargissement de la période d'observation des cas chez les lièvres, permet de mettre en avant la notion de « foyer tularémique » dans l'environnement. Cette notion est décrite par les vétérinaires (Vaissaire et al.)(7) comme étant le reflet de la maladie dans un biotope. En effet, si la surveillance est faite sur le lièvre, elle n'est pas réalisée pour les autres espèces sensibles à la maladie comme les campagnols, les écureuils ou les ragondins. D'autres espèces peuvent présenter des formes asymptomatiques de la maladie comme les sangliers, les carnivores domestiques ou sauvages qui peuvent toutes excréter des bactéries dans l'environnement et contaminer les eaux et les sols. Les « cas-lièvres » apparaissent ainsi comme le reflet d'une possible présence de *F.tularensis* dans l'environnement.

RESULTATS

1. Répartition des cas humains

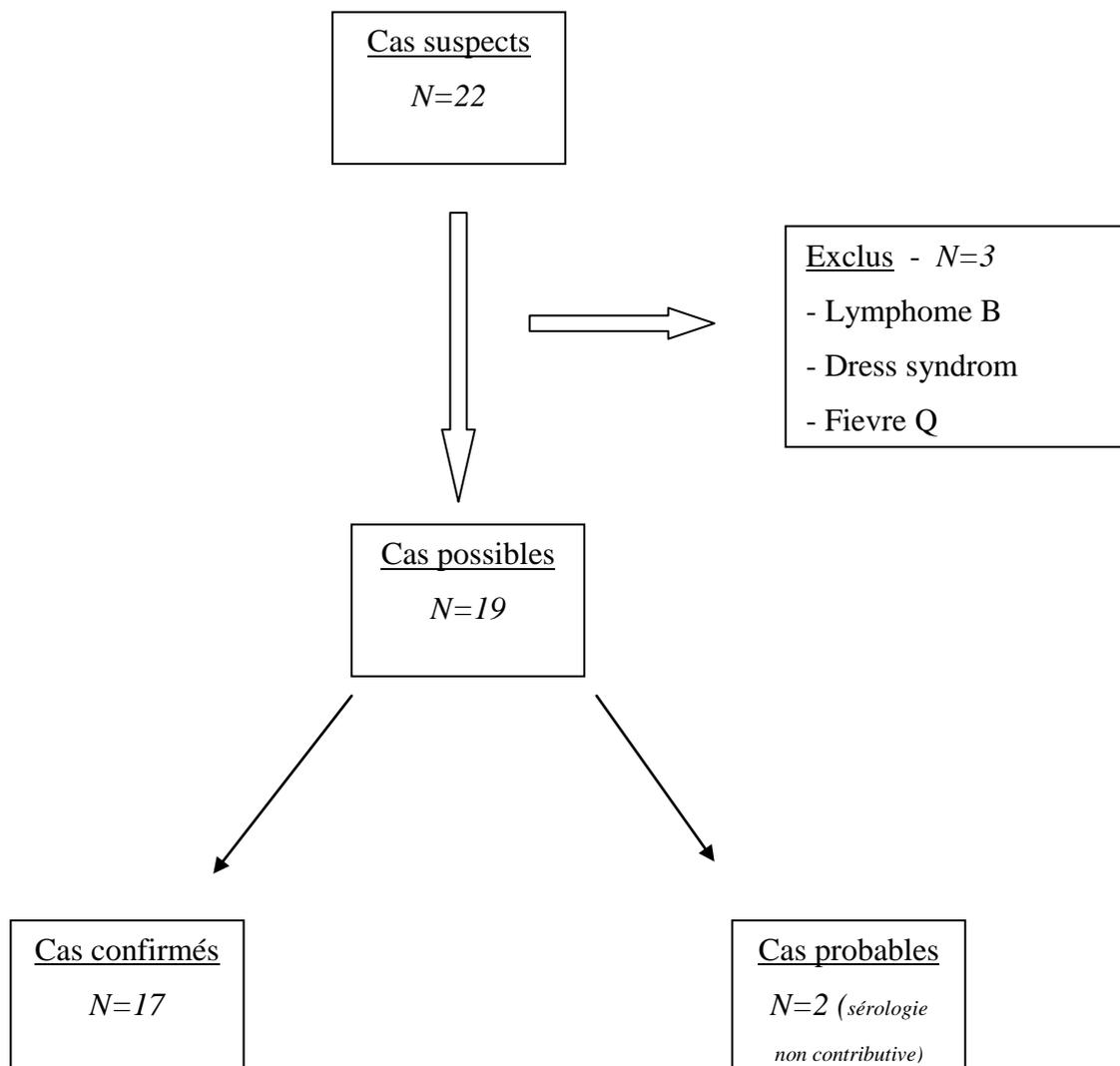
Vingt deux « cas suspects » de tularémie ont été recensés au CHD de la Roche-sur-Yon entre mars 2010 et mars 2015.

Trois dossiers ont été exclus du fait de l'existence d'une faible positivité sérologique, dans le cadre d'une autre pathologie évolutive dont le diagnostic a été retenu. Un patient présentait un Lymphome B sans symptomatologie évocatrice, un second était hospitalisé pour « DRESS syndrom ». Enfin, un patient présentait une sérologie Fievre Q à un titre d'anticorps élevé avec un titrage faible pour tularémie (probable réaction croisée).

Deux cas ont été retenus comme « cas probables » du fait d'une absence de positivité sérologique malgré des données cliniques et anamnésiques évoquant fortement une tularémie ulcéro-ganglionnaire. En effet, dans le cas de ces 2 patients, le diagnostic clinique ainsi que le traitement ont été instaurés moins de 3 semaines après le début des symptômes, c'est-à-dire avant le délai de séroconversion de 3 semaines, pouvant expliquer le défaut de séroconversion. Ces patients n'ont pas pu bénéficier de contrôle sérologique à distance.

Au total, dix-sept « cas confirmés » de tularémie ont été diagnostiqués au CHD de la Roche-sur-Yon entre le 1^{er} Mars 2010 et le 1^{er} mars 2015, incluant 4 femmes et 13 hommes. L'âge moyen des patients était de 53,2 ans (extrêmes allant de 12 à 85 ans). Tous les patients résidaient en Vendée au moment du diagnostic.

Tableau 1 : Inclusion et définition des groupes de patients :



2. Description des cas confirmés

Tableau 2 : description des « cas confirmés »

Patient	Année du diagnostic	sexe	Age au diagnostic	Ville de résidence	Forme clinique
1	2010	M	77	Aubigny	Ganglionnaire
2	2011	M	64	La Chapelle Achard	Pulmonaire
3	2012	F	62	Château Guibert	Ganglionnaire
4	2012	M	31	Nemy	Ulcéro-ganglionnaire
5	2012	F	60	La Guyonnière	Typhoïdique
6	2012	M	52	Nalliers	Ganglionnaire
7	2013	M	52	Landeronde	Ulcéro-ganglionnaire
8	2013	M	53	La Roche-sur-Yon	Typhoïdique
9	2013	M	57	Boufféré	Ganglionnaire
10	2014	F	12	Montaigu	Ganglionnaire
11	2014	F	44	Le Poiré-sur vie	Pulmonaire
12	2014	M	41	Les Herbiers	Ganglionnaire
13	2014	M	79	La Génétouze	Pulmonaire
14	2014	M	85	Pouzauges	Septicémique
15	2014	M	38	Beaulieu sous la Roche	Ulcéro-ganglionnaire
16	2015	M	42	Mareuil sur Lay Dissais	Pulmonaire
17	2015	M	56	Les Lucs sur Boulogne	Ulcéro-ganglionnaire
TOTAL		4F / 13M	Moyenne 53.2 ans		

Sur les dix-sept cas de tularémie, quatre ont présenté une forme ulcéro-ganglionnaire, six formes ganglionnaires, quatre formes pulmonaires, deux formes typhoïdiques et une forme septicémique. Il n'a pas été recensé de forme oropharyngée ni de forme oculo-ganglionnaire.

Tableau 3 : Formes cliniques des « cas confirmés » :

Formes cliniques	Nombre de cas
Ganglionnaire	6 (35%)
Ulcéro-ganglionnaire	4 (24%)
Typhoïdique	2 (12%)
Pulmonaire	4 (24%)
Oropharyngée	0 (0%)
Oculo-ganglionnaire	0 (0%)
Septicémique	1 (5%)
Total :	17 (100%)

Aucun patient n'est décédé. Tous les patients ont guéri sans séquelles après traitement. Une patiente atteinte de forme pulmonaire a présenté une dissociation pouls/température. 100% des patients ont présenté une fièvre supérieure à 38.5°C.

Une patiente a présenté une forme typhoïdique dans un contexte de maladie de Crohn traitée par Remicade®.

Le patient atteint de « forme septicémique » a présenté une aortite infectieuse avec anévrisme sous-rénal de l'aorte abdominale. Le diagnostic a été confirmé par une PCR positive à *F.tularensis* sur la pièce opératoire.

Tableau 4 : résumé clinique synthétique des « cas confirmés »

Patient	Forme clinique	Résumé clinique
1	Ganglionnaire	<i>Homme, 77ans, adénopathie axillaire droite et du coude homolatéral, fébrile à 39°C, après avoir ramassé un écureuil mort trouvé dans son puits. Traité par Doxycycline.</i>
2	Pulmonaire	<i>Homme de 64ans, agriculteur et chasseur, Pneumopathie fébrile avec toux, ayant présenté une hématurie macroscopique concomitante au décours d'une activité de chasse. Leptospirose écartée. Traité par Doxycycline.</i>
3	Ganglionnaire	<i>Femme de 62ans, adénopathies épitrochléennes et axillaire unilatérale, fébrile, suite à la manipulation d'une taupe morte dans son jardin. Traitée par Doxycycline.</i>
4	Ulcéro-ganglionnaire	<i>Homme de 31ans, adénopathie inguinale unilatérale fébrile, suite à une piqure de tique sur le membre inférieur homolatéral. Traité par Doxycycline.</i>
5	Typhoïdique	<i>Femme de 60ans, maladie de Cohn traitée par Remicade®, fièvre à 39°C avec diarrhées aspécifiques inhabituelles, chez une femme de chasseur ayant dépecé un lièvre abattu. Traitée par doxycycline.</i>
6	Ganglionnaire	<i>Homme, 52ans, chasseur, adénopathies axillaires bilatérales, fébrile, après avoir dépecé un lièvre. Traité par Doxycycline</i>
7	Ulcéro-ganglionnaire	<i>Homme de 52ans, adénopathie sous maxillaire unilatérale fébrile, suite à une chute dans une rivière. Plaie ulcérée du scalp. Traité par doxycycline.</i>
8	Typhoïdique	<i>Homme de 53ans, fièvre isolée à 39°C, suite à une piqure de tique. Traité par doxycycline</i>
9	Ganglionnaire	<i>Homme de 57ans, adénopathie axillaire et épitrochléenne unilatérale, inflammatoire et douloureuse, fébrile 38.5°C, suite à une plaie de la main en coupant du bois.</i>
10	Ganglionnaire	<i>Jeune fille de 12ans, adénopathie sous maxillaire unilatérale droite, ayant fistulisé secondairement, apparue 15 jours après un syndrome grippal avec fièvre 40°C pendant 7 jours. Piqure de tique du scalp évoquée. Présence de 3 chats au domicile dont un ayant une sérologie positive pour la tularémie. Traitée par doxycycline.</i>
11	Pulmonaire	<i>Femme de 44ans, lapins nains au domicile, pneumopathie atypique du lobe moyen droit, avec toux modérée fébrile 38.5°C. Dissociation pouls-température. Evolution initiale favorable sous Rulid, traitée secondairement par Doxycycline.</i>
12	Ganglionnaire	<i>Homme de 41ans, pratiquant du trail en zone boisée, adénopathies inguinales douloureuses et inflammatoires unilatérales. Pas de plaie ni d'escarre retrouvé aux membres inférieurs. Syndrome grippal ayant duré 7 jours, survenu 15 jours avant l'apparition des adénopathies.</i>

Patient	Forme clinique	Résumé clinique
13	Pulmonaire	<i>Homme de 79ans, chasseur, ATCD de tularémie en 1993 chez sa femme, adressé par son médecin traitant pour suspicion de tularémie. Toux sèche fébrile avec foyer de pneumopathie, cédant sous doxycycline.</i>
14	Septicémique	<i>Homme de 85ans, adénopathie axillaire unilatérale droite avec lymphangite après piqure de ronces sur la main. Absence de réponse à l'Augmentin. AEG en 5 à 6 semaines, pics fébriles quotidiens, bactériémie, Aortite avec anévrisme infectieux PCR +. Traité par 3 mois de doxycycline.</i>
15	Ulcéro-ganglionnaire	<i>Homme de 38ans, sport de plein air, fièvre après plaie du bras, adénopathie médiastinale nécrotique au TDM thoracique. Pas de pneumopathie.</i>
16	Pulmonaire	<i>Homme de 42ans, pneumopathie avec ADP médiastinale. Chasseur.</i>
17	Ulcéro-ganglionnaire	<i>Homme de 56ans, chasseur, dépeçant à mains nues les lièvres « moribonds » attrapés par sa chienne. Chapelet d'adénopathies axillaires, cervicales et sus-claviculaires, inflammatoires et douloureuses. Auto excision des adénopathies sus claviculaires par le patient lui-même. Traité par Tavanic® pendant 1 mois. Patient portant le diagnostic de tularémie sur les cadavres de lièvres en les secouant par les pates... « si ça fait glougou...c'est qu'il est mort de tularémie ! »</i>

3. Facteurs de risque d'exposition

Parmi les facteurs de risque de tularémie, six patients ont été en contact direct avec un lièvre mort, dont une femme de chasseur contaminée en dépeçant un lièvre abattu. Trois patients ont été piqués par une tique. Un patient a été contaminé suite à la manipulation d'une taupe morte. Un patient avait manipulé un écureuil mort. Une patiente avait deux lapins nains à son domicile ; seul facteur favorisant retrouvé. Deux patients avaient une activité de plein air sans autre facteur favorisant évident. Trois patients ont été contaminés suite à une plaie occasionnée par des végétaux. Aucun patient ne présentait une profession à risque, sauf un agriculteur ayant dépecé un lièvre tué lors d'une activité de chasse.

Tableau 5 : Facteurs de risque d'exposition

Facteurs de risque	Nombre de cas
Chasse/ contact direct avec un lièvre	6 (35%)
Plaie par des végétaux/ terre souillée	3 (18%)
Contact avec animaux réservoir (hors lièvre)	3 (18%)
Piqûre de tiques	3 (18%)
Activité de plein air (sans plaie évidente, ni piqûre)	2 (11%)
Total :	17 (100%)

Tableau 6 : Contact direct avec un lièvre versus autre facteur d'exposition

Facteur de risque	Nombre de cas
Contact direct avec un lièvre	6 (35%)
Absence de contact direct avec un lièvre	11 (65%)
Total :	17 (100%)

Le précédent tableau montre que seuls 35% des cas sont en lien avec un contact direct avec un lièvre.

4. Méthodes diagnostiques

Tableau 7 : Méthodes diagnostiques des « cas confirmés »

Patient	Forme clinique	sérologie	PCR sur sang et/ou serum	Remarques
1	Ganglionnaire	Positive	Négative	
2	Pulmonaire	Positive	Négative	
3	Ganglionnaire	Positive	Négative	
4	Ulcéro-ganglionnaire	Positive	Négative	
5	Typhoïdique	Positive	Négative	
6	Ganglionnaire	Positive	Négative	
7	Ulcéro-ganglionnaire	Positive	Négative	
8	Typhoïdique	Positive	Négative	
9	Ganglionnaire	Positive	Négative	
10	Ganglionnaire	Positive	Négative	
11	Pulmonaire	Positive	Négative	
12	Ganglionnaire	Positive	Négative	
13	Pulmonaire	Positive	Négative	
14	Septicémique	Positive	Positive	Aortite, 2 Hémocultures +
15	Ulcéro-ganglionnaire	Positive	Négative	
16	Pulmonaire	Positive	Négative	
17	Ulcéro-ganglionnaire	Positive		
		16 (100%)	1 (6%)	

5. Répartition géographique des Cas-humains de Mars 2010 à Mars 2015



Figure 8 - Répartition des cas confirmés humains de tularémie entre Mars 2010 et Mars 2015

Les dix-sept cas confirmés de tularémie ont été reportés sur la carte ci-dessus. On remarque l'apparition de trois « foyers humains » caractérisés par la proximité d'au moins trois cas, dans un rayon de 10km environ. La répartition géographique ne semble pas uniforme avec des zones naïves de cas humains.

6. Analyse des cas-humains versus cas-lièvres de Mars 2010 à Mars 2015

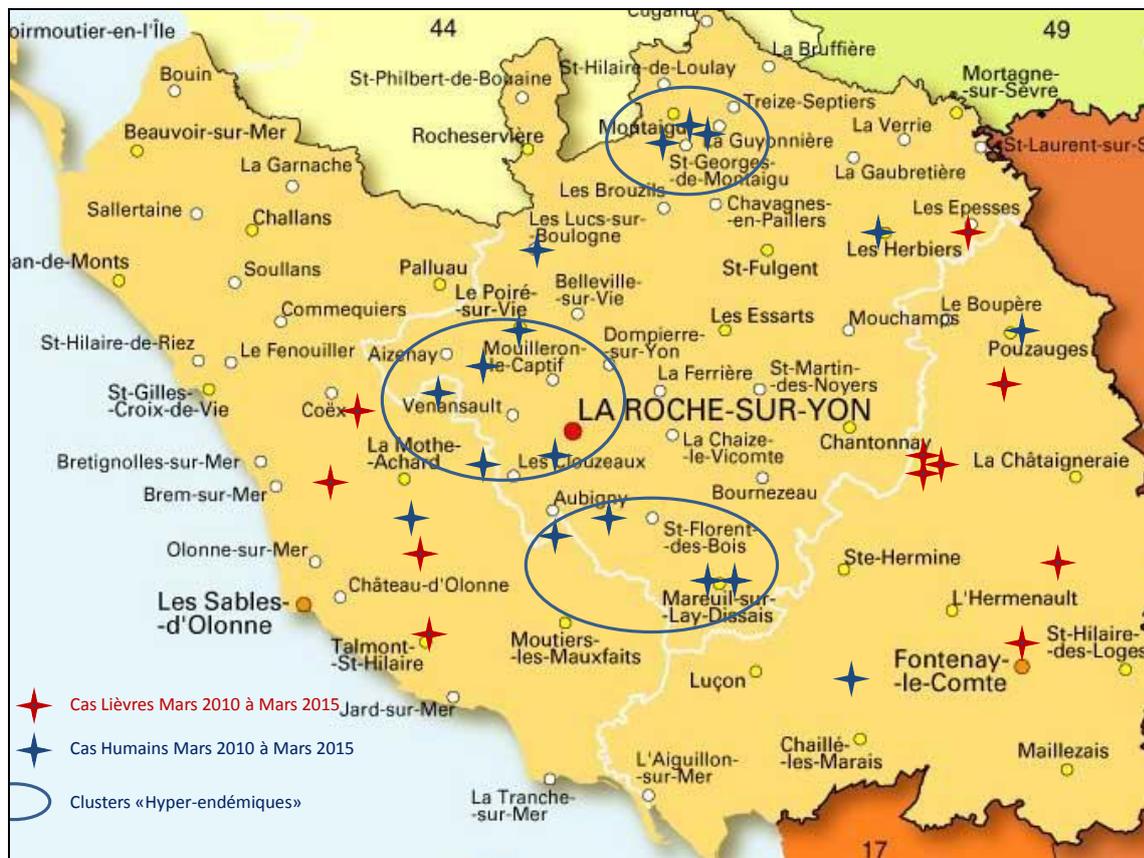


Figure 9 - Répartition des « cas humains » et des « cas lièvres » entre Mars 2010 et Mars 2015

En poursuivant l'analyse (figure 9), on remarque que sur la même période allant de Mars 2010 à Mars 2015, il n'y a pas eu de cas rapportés chez des lièvres dans les 3 foyers humains décrits sur la carte précédente (Figure 8). On remarque la présence de « cas-lièvres » dans des zones relativement restreintes du département avec là aussi des zones vierges de cas de tularémie concernant les lièvres. On notera ici, l'absence de lien de corrélation évident entre les « cas humains » et les « cas lièvres » sur la période étudiée.

DISCUSSION

1. Résultats de l'étude

Notre étude a permis d'effectuer un point épidémiologique sur l'activité de la maladie chez l'homme au niveau départemental. Les formes cliniques de la maladie que nous avons rencontrées ont été conformes aux descriptions faites dans les données de la littérature avec une répartition « classique » en proportion, entre les différentes formes.

Il existe néanmoins une exception concernant patient N°14 qui a présenté une bactériémie tularémique secondaire à une aortite infectieuse avec anévrisme sous-rénal de l'aorte abdominale. Le diagnostic a été confirmé par une PCR positive à *F.tularensis* sur la pièce opératoire. La forme clinique initiale évoquait une très probable forme ulcéro-ganglionnaire avec lymphangite et adénopathies axillaires unilatérales droites. Après antibiothérapie probabiliste initiale par Augmentin, le tableau a évolué défavorablement en 5 à 6 semaines, avec apparition de pics fébriles quotidiens et une altération de l'état général avec perte de 4 kg en 1 mois. Deux hémocultures sont alors revenues positives à coccobacille Gram négatif avec PCR positives pour chacune d'elles. Le diagnostic d'anévrisme infectieux a été suspecté devant l'aspect irrégulier de ce dernier au scanner thoraco-abdomino-pelvien. Après résection chirurgicale de l'anévrisme, le patient a été traité par doxycycline pendant 3 mois. Il est à noter que si plusieurs cas d'endocardites infectieuses à *F.tularensis* ont été décrits dans les zones d'endémie de type B(37), aucun cas d'aortite infectieuse à *Francisella tularensis* n'a été décrit dans aucune publication internationale. Ce cas est donc a priori sans précédent.

Concernant la répartition géographique des cas-confirmés, l'étude des différentes cartes a permis de mettre en évidence 3 zones départementales « hyper-endémiques », contrastant avec des zones naïves de cas-humains répertoriés (figure 8). Cette constatation permet de supposer l'existence d'un vecteur de contamination, et que ce dernier n'a semble-t-il pas une répartition homogène à l'échelon départemental. Il est de plus intéressant de souligner

l'absence de survenue de cas chez les lièvres, dans les zones où les cas humains ont été recensés au cours de notre étude (figure 9). Cette constatation est à rapprocher du faible taux (35%) de contact direct avec des lièvres concernant les cas-confirmés humains de notre étude. La tularémie ne semble donc pas seulement être la maladie du « chasseur de lièvres », comme le prétend pourtant la croyance populaire.

Enfin, en cherchant à étendre la période d'observation des cas répertoriés chez les lièvres (figure 10), nous avons tenté de mettre en évidence des « foyers tularémiques », permettant ainsi d'appréhender des zones réservoirs de la bactérie. L'existence de la maladie sur les territoires concernés, préalablement à notre période d'étude, permet d'évoquer la présence possible de la bactérie chez d'autres espèces animales que le lièvre : tiques, écureuils, taupes, etc.... Ces espèces « réservoirs », quelles soient symptomatiques ou non, deviennent des vecteurs potentiels de la maladie vers l'homme. Elles peuvent être également responsables de la contamination des sols et des cours d'eaux via leurs déjections et permettre ainsi la persistance de l'agent infectieux sur le territoire concerné.

Bien que mis en avant par certains auteurs (7), ce raisonnement n'est cependant qu'une hypothèse. Il permet d'expliquer d'une part, l'existence de cas-humains dans ces territoires malgré l'absence de cas-lièvres concomitant (figure 6) ; d'autre part, il rejoint les conclusions de différentes études épidémiologiques vétérinaires qui évoquent l'existence d'un réservoir animal largement sous-estimé, et qui va bien au delà de l'espèce animale habituellement contrôlée qu'est le lièvre. La dernière publication de l'EDWA (annexe 1) sur la surveillance de la tularémie animale apporte la même conclusion en soulignant : « la nécessité de recours à d'autres études éco-épidémiologiques afin de mieux comprendre le cycle épidémiologique de la tularémie, et de permettre la détection de zones à risque pour une meilleure prévention de la transmission à l'Homme ». De nombreuses zones d'ombres existent concernant la prévalence de la maladie selon les espèces animales. L'existence d'un cycle aquatique de la bactérie est supposée, avec une méconnaissance de la prévalence de la maladie chez les espèces aquatiques comme les écrevisses et autres crustacés. Il en est de même pour l'existence probable d'un cycle tellurique alimenté par les déjections des animaux réservoirs, mais dont les mécanismes intrinsèques sont encore largement méconnus.

Il paraît par ailleurs important de souligner le possible accroissement récent du réservoir de la maladie par le biais de la prolifération d'espèces animales « nuisibles » dans plusieurs départements français. Citons par exemple l'écrevisse de Louisiane, originaire des

États-Unis, qui fut introduite intentionnellement par l'homme dans les années 1970 en Espagne, en Italie et en France afin de l'élever pour sa chair appréciée(48). Malheureusement, comme ce fut le cas pour le ragondin (autre espèce réservoir de la tularémie et importée des États-Unis), certaines écrevisses se sont échappées des élevages ou ont été relâchées volontairement dans le milieu naturel. Du fait de l'absence de prédateur dans leur nouvel environnement, l'écrevisse de Louisiane et le ragondin prolifèrent de façon inquiétante dans le Marais Poitevin, les marais de Vendée et les étangs de Loire-Atlantique (marais de Goulaine)(49).

Outre les conséquences écologiques locales avec pour les écrevisses, la destruction des berges des cours d'eau ou le déséquilibre de l'écosystème local en se nourrissant d'œufs d'amphibiens(48), la prolifération de ces espèces « nuisibles » importées, pourrait participer à l'augmentation de cas d'épizooties telles que la tularémie ou la leptospirose dans les années à venir. Le nombre de cas de transmission à l'Homme pourrait alors croître dans les zones géographiques concernées.

2. Limites de l'étude et biais

Concernant le recrutement cas humains, notre étude portait sur les cas diagnostiqués au CHD de la Roche-sur-Yon et non pas sur l'ensemble du département de la Vendée. Les DIM des centres hospitaliers des Sables d'Olonne et de Fontenay-le-Comte n'ont pas été interrogés. Il est donc possible que d'autres patients aient été vus en consultation ou suivi pour tularémie dans ces centres. Néanmoins, le CNR des *Franciscella* de Marseille n'a pas reçu de demande d'analyse de sérum pour ces centres hospitaliers, et n'a pas enregistré de cas déclarés. De plus, nous n'avons pas interrogé les laboratoires d'analyses Biomnis qui ont été susceptibles d'avoir reçus des demandes d'analyses de sérums. Cependant le CHD de la Roche-sur-Yon étant le plus gros centre hospitalier du département, il est probable que vu le caractère rare de la maladie, l'ensemble des cas de tularémie ait été adressés au CHD. Malgré cela, un biais de recrutement est toujours possible. Par ailleurs, certains patients ont pu être traités de façon empirique sans qu'il n'y ait eu de déclaration faite à l'ARS, rendant impossible le recueil d'informations les concernant.

La répartition géographique des cas-humains est également discutable. Nous avons indiqué plus haut que le lieu de résidence du patient au moment du diagnostic avait été pris en compte pour établir les cartes de distribution des cas-humains. L'hypothèse étant ici que les lieux de contaminations étaient relativement proches des lieux d'habitations.

Concernant la répartition des cas-lièvres, un biais de recrutement des cas est très probable. En effet, la recherche de l'affection et sa surveillance chez le lièvre est réalisée grâce à l'ONCF et les fédérations de chasseurs, mais elle est fondée sur le volontariat de ces fédérations à participer au réseau SAGIR, et certaines sont plus actives que d'autres ; soit pour des raisons de manque d'information, soit par désintérêt par rapport à cette surveillance. Ainsi on peut supposer que sur nos cartes, les fédérations de chasse de « La Motte-Achard » et de « Bazoges-en-Pareds » soient plus sensibilisées que d'autres fédérations à la surveillance des zoonoses, pouvant expliquer le grand nombre de cas-lièvres répertoriés à leurs alentours.

3. Diagnostic par PCR dans le sang

Concernant les résultats des différentes méthodes diagnostiques utilisées chez les « cas confirmés » Humains de notre étude, il est intéressant de noter la faible sensibilité de la PCR sanguine par rapport à la sérologie. Cette constatation rejoint les données apportées par des publications récentes(6), à savoir la faible sensibilité de la PCR sanguine réalisée après le délai de séroconversion. Après discussion avec des médecins du CNR des *Franciscella* de Marseille, ces résultats sont conformes à leur expertise : il semblerait que la PCR sanguine ne soit que très rarement positive en dehors des cas de bactériémie (ce qui est notre cas). En revanche la PCR serait, toujours selon eux, plus sensible lorsqu'elle est effectuée sur biopsie ganglionnaire, ce qui rejoint les données récentes de la littérature(6). Il semblerait donc exister un intérêt diagnostique dans la réalisation systématique d'une PCR sur la biopsie d'un ganglion accessible. Ceci serait d'autant plus intéressant pour des patients pris en charge dans un délai de moins de 3 semaines après le début de la maladie.

4. Tularémie et médecine générale

La tularémie est une maladie relativement méconnue par beaucoup de praticiens et de microbiologistes. Elle reste, dans l'esprit de beaucoup, une maladie un peu particulière très liée aux lièvres et aux chasseurs et n'est pas reconnue comme une affection pouvant être contractée dans un environnement rural de façon plus générale. De plus, la connaissance des autres formes cliniques que la « classique » forme ulcéro-ganglionnaire est encore moins répandue chez les professionnels de santé.

Les formes respiratoires sont vraisemblablement plus fréquentes et bon nombre d'entre-elles ne sont pas diagnostiquées et sont probablement classées sous la dénomination « syndrome grippal », même si l'asthénie persiste au-delà des limites normales d'un état grippal transitoire. Heureusement, seules des souches de *Franciscella* de type B sont retrouvées en France, dont le pouvoir pathogène peu important peut être responsable d'une simple asthénie marquée mais bénigne, et évoluer progressivement vers une guérison spontanée. Cette forme clinique ne doit cependant pas être méconnue, du fait de la possible utilisation d'une souche virulente de type A à des fins terroristes via l'utilisation d'aérosols, et provoquer ainsi un grand nombre d'affections respiratoires graves et mortelles pour un certain pourcentage d'individus.

Des examens sérologiques pratiqués plus fréquemment lors de syndrome pseudo-grippal en milieu rural pourraient permettre de mieux apprécier l'importance de cette forme. Il en est de même pour les formes typhoïdiques, dont l'orientation diagnostique est souvent difficile.

Les médecins généralistes trouvent ici une place importante dans « l'évocation » du diagnostic de tularémie en milieu rural, afin d'adresser rapidement leurs patients à un médecin spécialiste en infectiologie. Ce dernier sera le plus à même d'utiliser la stratégie diagnostique appropriée en fonction de la forme clinique de la maladie et du délai d'apparition de la symptomatologie. Plutôt qu'un renforcement de la formation initiale des médecins généralistes au cours de leur internat, on pourrait renforcer des Formations médicales continues (FMC) dédiées aux zoonoses rencontrées dans les départements ruraux ; la tularémie mais également la leptospirose ou la psittacose sont fréquemment rencontrées en Vendée et dans de nombreux départements ruraux. La sensibilisation des praticiens libéraux à ces zoonoses leur permettraient très certainement d'être mieux armés pour les évoquer.

CONCLUSION

La tularémie est une maladie rare mais bien présente en milieu rural. Les connaissances scientifiques et médicales concernant cette maladie se sont considérablement améliorées au cours des dix dernières années. Il s'agit néanmoins d'une maladie largement méconnue du grand public et des professionnels de santé. La formation continue des médecins généralistes exerçant en milieu rural pourrait permettre d'évoquer plus facilement le diagnostic de cette maladie souvent bénigne, mais pouvant être responsable d'une asthénie prolongée invalidante ou de la suppuration chronique d'adénopathies en cas de retard diagnostic. La maladie n'est pas simplement celle du « chasseur de lièvres », mais d'autres voies de contamination sont possibles et probablement plus fréquentes que la classique manipulation d'un lièvre abattu. Les nouveaux loisirs de plein air type trekking, trails ou randonnées en milieu boisés sont des voies de contamination à ne pas négliger, tout comme les morsures de tiques. La stratégie diagnostique et de prise en charge devrait être du ressort du médecin infectiologue, idéalement mis sur la piste de cette zoonose par le médecin généraliste adressant son patient. Un interrogatoire minutieux du patient par un médecin connaissant cette maladie permet de l'évoquer facilement grâce à sa sémiologie riche et bien décrite. Enfin, de nombreuses études éco-épidémiologiques seront nécessaires afin de connaître l'ampleur réelle du réservoir de cette maladie, de mieux comprendre le cycle épidémiologique de la tularémie, et de permettre la détection de zones à risque pour une meilleure prévention de la transmission à l'Homme.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Guihot A, Bricaire F, Bossi P. Tularémie. EMC - Mal Infect. mars 2005;2(1):1-10.
2. Tarnvik A, Grunow R, Petersen J, Sjostedt A, Richard W, Anda P, et al. WHO Guidelines on Tularemia [Internet]. World Health Organization; 2007 [cité 9 déc 2014] p. 125. Disponible sur: <http://www.cdc.gov/tularemia/resources/whotularemiamanual.pdf>
3. Dennis DT, Inglesby TV, Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, Eitzen E, et al. Tularemia as a biological weapon: medical and public health management. JAMA. 6 juin 2001;285(21):2763-73.
4. Bossi P, Bricaire F. La tularémie, arme potentielle de bioterrorisme. Presse Médicale. juill 2003;32(24):1123-7.
5. Ellis J, Oyston PCF, Green M, Titball RW. Tularemia. Clin Microbiol Rev. oct 2002;15(4):631-46.
6. Maurin M. Tularémie. EMC - Mal Infect. 2015;(1):1-9.
7. Vaissaire J, Mendy C, Le Doujet C, Le Coustumier A. La Tularémie. La maladie et son épidémiologie en France. Médecine Mal Infect. mai 2005;35(5):273-80.
8. Abd H, Johansson T, Golovliov I. Survival and Growth of Francisella tularensis in Acanthamoeba castellanii. Appl Environ Microbiol. 2003;69(1):600.
9. La Scola B, Maurin M. Rapport d'activité 2013 d'étude des Francisella - CNR Marseille - CNRLA Grenoble. Centre National de Référence des Francisella - InVS; 2013 p. 64.
10. Sjostedt A. Virulence determinants and protective antigens of Francisella tularensis. Curr Opin Microbiol. févr 2003;6(1):66-71.
11. Wehrly TD, Chong A, Virtaneva K, Sturdevant DE, Child R, Edwards JA, et al. Intracellular biology and virulence determinants of Francisella tularensis revealed by transcriptional profiling inside macrophages. Cell Microbiol. 2009;11(7):1128-50.
12. Law HT, Lin AE-J, Kim Y, Quach B, Nano FE, Guttman JA. Francisella tularensis Uses Cholesterol and Clathrin-Based Endocytic Mechanisms to Invade Hepatocytes. Sci Rep [Internet]. 14 déc 2011 [cité 10 déc 2014];1. Disponible sur: <http://www.nature.com/srep/2011/111214/srep00192/full/srep00192.html>
13. Hall JD, Craven RR, Fuller JR, Pickles RJ, Kawula TH. Francisella tularensis Replicates within Alveolar Type II Epithelial Cells In Vitro and In Vivo following Inhalation. Infect Immun. 2 janv 2007;75(2):1034-9.
14. Law HT, Sriram A, Fevang C, Nix EB, Nano FE, Guttman JA. IglC and PdpA Are Important for Promoting Francisella Invasion and Intracellular Growth in Epithelial Cells. PLoS ONE [Internet]. 12 août 2014 [cité 9 déc 2014];9(8). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4130613/>
15. Evans M, Gregory D, Schaffner W, Mcgee Z. Tularemia: A 30-Year Experience With 88 Cases. Medecine. juill 1985;64(4):215-83.
16. Eliasson H, Lindbäck J, Nuorti JP, Arneborn M, Giesecke J, Tegnell A. The 2000 Tularemia Outbreak: A Case-Control Study of Risk Factors in Disease-Endemic and Emergent Areas, Sweden. Emerg Infect Dis. sept 2002;8(9):956-60.

17. Anda P, Segura del Pozo J, Díaz García JM, Escudero R, García Peña FJ, López Velasco MC, et al. Waterborne outbreak of tularemia associated with crayfish fishing. *Emerg Infect Dis.* 2001;7(3 Suppl):575-82.
18. Mailles A, Madani N, Maurin M, Garin-Bastuji B, Vaillant V. [Unexpected increase of human and animal tularemia cases during winter 2007/2008 in France: Emergence or short-lasting episode?]. *Médecine Mal Infect.* mai 2010;40(5):279-84.
19. Feldman KA, Ensore RE, Lathrop SL, Matyas BT, McGuill M, Schriefer ME, et al. An Outbreak of Primary Pneumonic Tularemia on Martha's Vineyard. *N Engl J Med.* 29 nov 2001;345(22):1601-6.
20. Tärnvik A, Berglund L. Tularaemia. *Eur Respir J.* févr 2003;21(2):361-73.
21. Siret V, Prat M, Ansart S. Cas groupés de tularémie, Vendée, août 2004 [Internet]. 2006 [cité 13 nov 2014]. Report No.: BEH n°17/2006. Disponible sur: http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=4907
22. Mailles A, Vaillant V. Bilan de 10 années de surveillance de la tularémie chez l'Homme en France. [Internet]. Institut de Veille Sanitaire; 2013 [cité 30 mai 2014] p. 16. Disponible sur: <http://www.invs.sante.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2013/Bilan-de-10-annees-de-surveillance-de-la-tularemie-chez-l-Homme-en-France>
23. Bossi P, Bricaire F. Bioterrorisme et manifestations respiratoires. *Rev Mal Respir.* déc 2004;21(6):1067-70.
24. Krenzelo EP. Biological and Chemical Terrorism: A Pharmacy Preparedness Guide. ASHP; 2003. 224 p.
25. Rogutskiï SV, Khramtsov MM, Avchinikov AV, Gar'kavaia OI, Larchenkova NV, Golovanov AM, et al. [An epidemiological investigation of a tularemia outbreak in Smolensk Province]. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol.* avr 1997;(2):33-7.
26. KAVANAUGH CN. Tularemia: A consideration of one hundred and twenty-three cases, with observations at autopsy in one. *Arch Intern Med.* 1 janv 1935;55(1):61-85.
27. PULLEN RL, STUART BM. Tularemia: Analysis of 225 cases. *J Am Med Assoc.* 13 oct 1945;129(7):495-500.
28. Gill V, Cunha BA. Tularemia pneumonia. *Semin Respir Infect.* mars 1997;12(1):61-7.
29. Syrjälä H, Sutinen S, Jokinen K, Nieminen P, Tuuponen T, Salminen A. Bronchial changes in airborne tularemia. *J Laryngol Otol.* oct 1986;100(10):1169-76.
30. Dahlstrand S, Ringertz O, Zetterberg B. Airborne tularemia in Sweden. *Scand J Infect Dis.* 1971;3(1):7-16.
31. Bellido-Casado J, Pérez-Castrillón JL, Bachiller-Luque P, Martín-Luquero M, Mena-Martín FJ, Herreros-Fernández V. Report on Five Cases of Tularaemic Pneumonia in a Tularaemia Outbreak in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1 avr 2000;19(3):218-20.
32. Helvacı S, Gedikoğlu S, Akalin H, Oral HB. Tularemia in Bursa, Turkey: 205 cases in ten years. *Eur J Epidemiol.* mars 2000;16(3):271-6.
33. Kantardjiev T, Padeshki P, Ivanov IN. Diagnostic approaches for oculoglandular tularemia: advantages of PCR. *Br J Ophthalmol.* 9 janv 2007;91(9):1206-8.
34. Maurin M, Castan B, Roch N, Gustin B, Pelloux I, Mailles A, et al. Real-Time PCR for Diagnosis of Oculoglandular Tularemia. *Emerg Infect Dis.* janv 2010;16(1):152-3.

35. Bossi P, Tegnell A, Baka A, Van Loock F, Hendriks J, Werner A, et al. Bichat guidelines for the clinical management of tularaemia and bioterrorism-related tularaemia. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull*. déc 2004;9(12):E9-10.
36. Provenza JM, Klotz SA, Penn RL. Isolation of *Francisella tularensis* from blood. *J Clin Microbiol*. 9 janv 1986;24(3):453-5.
37. Tancik CA, Dillaha JA. *Francisella tularensis* Endocarditis. *Clin Infect Dis*. 2 janv 2000;30(2):399-400.
38. Ortego TJ, Hutchins LF, Rice J, Davis GR. Tularemic hepatitis presenting as obstructive jaundice. *Gastroenterology*. août 1986;91(2):461-3.
39. Haristoy X, Lozniewski A, Tram C, Simeon D, Bevanger L, Lion C. *Francisella tularensis* Bacteremia. *J Clin Microbiol*. 6 janv 2003;41(6):2774-6.
40. Hill B, Sandström G, Schröder S, Franzén C, Tärnvik A. A Case of Tularemia Meningitis in Sweden. *Scand J Infect Dis*. 1 janv 1990;22(1):95-9.
41. Syrjälä H, Karvonen J, Salminen A. Skin manifestations of tularemia: a study of 88 cases in northern Finland during 16 years (1967-1983). *Acta Derm Venereol*. 1984;64(6):513-6.
42. Syrjälä H. Peripheral blood leukocyte counts, erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in tularemia caused by the type B strain of *Francisella tularensis*. *Infection*. avr 1986;14(2):51-4.
43. Enderlin G, Morales L, Jacobs RF, Cross JT. Streptomycin and Alternative Agents for the Treatment of Tularemia: Review of the Literature. *Clin Infect Dis*. 7 janv 1994;19(1):42-7.
44. Reintjes R, Dedushaj I, Gjini A, Jorgensen TR, Cotter B, Lieftucht A, et al. Tularemia Outbreak Investigation in Kosovo: Case Control and Environmental Studies. *Emerg Infect Dis*. janv 2002;8(1):69-73.
45. Centro Nacional de Epidemiologia, Instituto de Salud Carlos III, Red Nacional de vigilancia Epidemiologica de espana. Brote de tularemia en castilla y León. *Boletin Epidemiol Sem*. 1997;5(26):249-52.
46. Gutiérrez MP, Bratos MA, Garrote JI, Dueñas A, Almaraz A, Alamo R, et al. Serologic evidence of human infection by *Francisella tularensis* in the population of Castilla y León (Spain) prior to 1997. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2003;35(2):165-9.
47. Oncofs - Réseau SAGIR [Internet]. [cité 18 mars 2015]. Disponible sur: <http://www.oncofs.gouv.fr/Reseau-SAGIR-ru105>
48. L'écrevisse de Louisiane [Internet]. Le blog du Marais Poitevin. [cité 17 mai 2015]. Disponible sur: <http://www.blog-marais-poitevin.fr/ecrevisse-louisiane/>
49. Inquiétante invasion d'écrevisses dans le marais [Internet]. Ouest-France.fr. [cité 17 mai 2015]. Disponible sur: <http://www.ouest-france.fr/inquietante-invasion-decrevisses-dans-le-marais-1357295/>

ANNEXES

Annexe 1



EPIDEMIOSURVEILLANCE OF TULAREMIA IN FRENCH WILDLIFE: 2003-2013 RESULTS

Marie MOINET¹, Christiane MENDY², Anouk DECORS³, Jean-Yves CHOLLET³, Eva FAURE⁴ and Nora MADANI²

¹ French agency for food, environmental and occupational health safety, Nancy Laboratory for rabies and wildlife, Malzeville, France; ² French agency for food, environmental and occupational health safety, Animal Health Laboratory, Maisons-Alfort, France; ³ National hunting and wildlife agency, Studies and research department, La Ferté-en-Yvelines, France; ⁴ National Hunting Federation, Issy-les-Moulineaux, France

Introduction

Tularemia in lagomorphs (brown hare [*Lepus europaeus*] and wild rabbit [*Oryctolagus cuniculus*]), particularly due to *Francisella tularensis* subsp. *holarctica*, is historically enzootic in Europe. In France, surveillance of this disease is almost exclusively carried out on found dead or dying lagomorphs within the national wildlife mortality surveillance Network (SAGIR). Although tularemia has a very broad host range and has been reported from more than 300 species of mammals, birds, amphibians or invertebrates, it is primarily a disease of lagomorphs and rodents. Infection can be transmitted to humans by contact with infected animals, by arthropods (bites), by ingestion of contaminated water or food, or by inhalation of infectious aerosols.



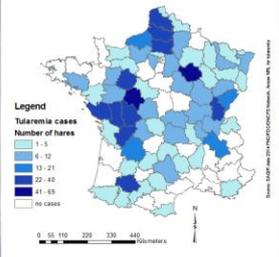


Figure 1: Choropleth map of confirmed and possible cases of tularemia in France between 2002-2003 and 2012-2013 hunting seasons

Material & Methods

Data comes from samples sent to the National Reference Laboratory for Tularemia (NRTL) and from the SAGIR Network. Dead or dying animals found by hunters are transported to the local veterinary laboratory where necropsies and analyses are carried out to investigate the cause of death/morbidity. In some departments a culture of *F. tularensis* is systematically undertaken on European brown hares (*Lepus europaeus*), in others, tularemia is investigated only in the presence of evocative lesions, by culture and/or PCR. The NRTL receives samples for either first or second intention diagnosis. Infection with *F. tularensis* was confirmed by conventional bacteriological isolation and detection by real-time PCR performed on tissues. Tissue samples were cultured on Chocolate agar supplemented with cysteine and on Francis agar medium. The putative colonies isolated by culture were identified using phenotypical characters (Gram staining, oxidase and catalase tests), and the species identification was confirmed by specific nested PCR targeting *tul4*. SAGIR data is incorporated by the Anses (Nancy laboratory) in a national database for epidemiological analysis. Because tularemia is more often detected in the winter months, data was aggregated by hunting season (1st July – 30th June) instead of calendar year. Confirmed cases were defined as animals with at least one positive result (bacteriology or PCR), possible cases were animals with evocative lesions but no analyses. We calculated empirically Bayes-smoothed rates for tularemia incidence relative to the total number of hares collected by SAGIR (Pfeiffer et al., 2008).

Results - Discussion

46 to 124 outbreaks of tularemia concerning 21 to 34 departments were listed each season for a total of 739 outbreaks during the study period, affecting 63 different departments and 613 different administrative districts (*commune*). *F. tularensis* was mainly isolated on hares (732 cases), but also on 4 rabbits (*Oryctolagus cuniculus*), 2 roe deer (*Capreolus capreolus*) and 1 wild boar (*Sus scrofa*).

Evolution of the temporal and spatial distribution of cases (Figure 1, 2 and 3) suggests various epidemiological situations across the country and a seasonality of the disease in the winter months.

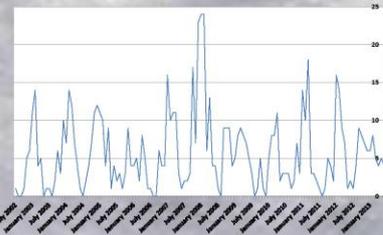


Figure 2: Temporal distribution of confirmed and possible cases of tularemia in France

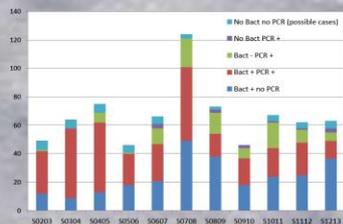


Figure 4: Diagnostic methods used for confirmed and possible cases

Comparison with the cases recorded the previous decade by the NRTL (Vaissaire et al., 2005) shows an increase both in cases (739 vs 435) and in areas affected (63 vs 47 departments). This can be explained by a more thorough surveillance when data from the NRTL and SAGIR Network are combined, and by the more common use of PCR assay (Fig 4).

The increase of cases in winter 2007-2008 which was not confined to a particular area was also recorded for humans (Mailles et al., 2010) and raises the question of a common environmental source.



Conclusion

The increased number of cases recorded this decade confirms that PCR assay is more appropriate than conventional bacteriology that lack sensitivity for identification of tularemia in wildlife. The geographical difference in disease rates between departments remains unexplained and further eco-epidemiological studies are needed to better understand the epidemiological cycle of tularemia and detect higher risk areas for a better prevention of zoonotic transmission to humans. Various pathological findings suggest different transmission process or pathogenesis among hares and comparison of *F. tularensis* strains of different origins by genome analysis could help for a better understanding of the disease.

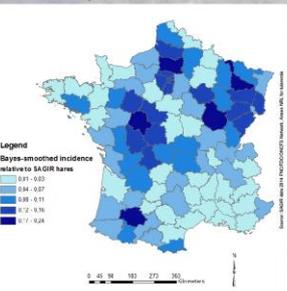


Figure 3: Choropleth map of empirically Bayes-smoothed incidence of tularemia in France between 2002-2003 and 2012-2013 hunting seasons

References

Vaissaire, J., C. Mendy, et al. (2005). "Tularemia: The disease and its epidemiology in France." *Med Mal Infect* 35(6): 273-280.

Pfeiffer, D., T. Robinson, et al. (2008). "Spatial analysis in epidemiology." Oxford University Press, New York.

Mailles, A., N. Madani, et al. (2010). "Unexpected increase of human and animal tularemia cases during winter 2007/2008 in France: Emergence or short-lasting episode?" *Med Mal Infect* 40(8): 278-284.

Corresponding author:
Marie MOINET, marie.moinet@anses.fr
Website :
<http://www.oncfs.gouv.fr/Reseau-SAGIR-rui05>

Acknowledgements
We are grateful to observers, hunters, technicians of hunting federations, ONCFS technicians and departmental veterinary laboratories for their involvement in SAGIR network. The analyses reported here are supported by findings of hunting federations, ONCFS and Anses.

Photo credits:
J.K. Lindley (www.commanster.eu) - Background
Rémy Lepiron

EWDA 11th conference, 25-29 August 2014, Edinburgh, Scotland.
"Conservation Medicine"



Annexe 2



Laboratoire de l'Environnement et de l'Alimentation de la Vendée

TULAREMIE 2002-2014	
DATE DECOUVERTE	LIEU DECOUVERTE
02/11/2002	ST PIERRE LE VIEUX
06/10/2004	ARDELAY
17/10/2004	ST LAURENT DE LA SALLE
04/12/2004	BAZOGES EN PAREDS
05/12/2004	ST FULGENT
17/12/2004	ST GERMAIN L'AUGUILLER
19/01/2005	CEZAI
06/11/2005	CHAILLE SOUS LES ORMEAUX
13/11/2005	BAZOGES EN PAREDS
11/12/2005	POUZAUGES
29/12/2005	BAZOGES EN PAREDS
08/03/2007	ST MARTIN LARS
20/04/2007	LA CHAPELLE AUX LYS
16/12/2007	LA CHAPELLE ACHARD
23/12/2007	BAZOGES EN PAREDS
35/01/2008	TALMONT ST HILAIRE
27/01/2008	CHATEAU GUIBERT
29/01/2008	VENANSULT



Laboratoire de l'Environnement et de l'Alimentation de la Vendée

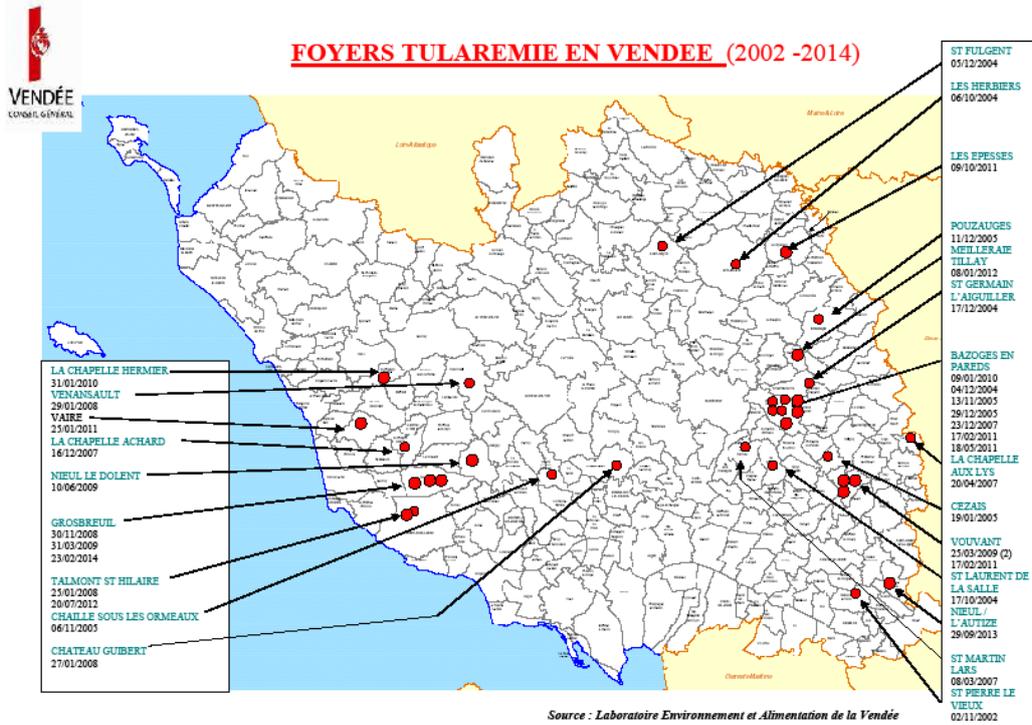
VENDÉE
COMMUNAUTÉ

30/11/2008	GROSBREUIL
25/03/2009	VOUVANT
31/03/2009	GROSBREUIL
10/06/2009	NIEUL LE DOLENT
09/01/2010	BAZOGES EN PAREDS
31/01/2010	LA CHAPELLE HERMIER
25/01/2011	VAIRE
17/02/2011	BAZOGES EN PAREDS
17/02/2011	VOUVANT
18/05/2011	BAZOGES EN PAREDS
09/10/2011	LES EPESSÉS
08/01/2012	MEILLERAIE TILLAY
20/07/2012	TALMONT ST HILAIRE
29/09/2013	NIEUL SUR L'AUTIZE
23/02/2014	GROSBREUIL

Laboratoire de l'Environnement et de l'Alimentation de la Vendée

ANNEE	NOMBRE DE LIEVRES ANALYSES
2004	63
2005	91
2006	108
2007	103
2008	54
2009	56
2010	76
2011	61
2012	57
2013	33

Annexe 3



La Tularémie humaine en Vendée. Analyse de cas Humains diagnostiqués au CHD de La Roche-sur-Yon entre 2010 et 2015.

RESUME

Objectifs : La tularémie est une anthroponose cosmopolite causée par un petit coccobacille, *Francisella tularensis*, dont les réservoirs animaux sont nombreux et probablement sous-estimés. Notre étude avait pour but de faire un point épidémiologique sur l'activité de la maladie chez l'homme à l'échelon départemental, et de rechercher un lien avec les cas rencontrés chez les lièvres.

Matériels et Méthode : Ont été inclus les patients présentant un tableau clinique évocateur associé à une preuve sérologique, chez des patients ayant consulté au CHD de la Roche-sur-Yon pour suspicion de tularémie, entre Mars 2010 et Mars 2015.

Résultats : Dix-sept cas confirmés de tularémie ont été diagnostiqués. Quatre formes ulcéro-ganglionnaires ont été recensées, six formes ganglionnaires, quatre formes pulmonaires, deux formes typhoïdiques et une forme septicémique. Seuls six patients (35%) ont rapportés un contact direct avec un lièvre abattu. Trois foyers de cas humains rapprochés sont retrouvés à l'échelon départemental. On ne retrouve pas de cas rapportés chez les lièvres dans ces trois foyers humains sur la même période. En revanche, on peut évoquer la présence de *F. tularensis* dans l'environnement de ces foyers, par l'existence de cas-lièvres préalables à notre période d'étude, permettant ainsi d'appréhender des zones réservoirs de la bactérie.

Conclusion : La tularémie est une maladie rare mais bien présente en milieu rural. Il s'agit néanmoins d'une maladie largement méconnue du grand public et des professionnels de santé. La formation continue des médecins généralistes exerçant en milieu rural pourrait permettre d'évoquer plus facilement le diagnostic de cette maladie. Des études éco-épidémiologiques seront nécessaires afin de connaître l'ampleur réelle du réservoir de cette maladie.

MOTS-CLES

Tularémie, zoonose, *Francisella tularensis*, bioterrorisme, maladie du lièvre, prévention, PCR, sérologie.