



Centre National de Référence des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella*

Professeur Pierre-Edouard FOURNIER
Directeur

RAPPORT D'ACTIVITE 2016



Institut Hospitalo-Universitaire Méditerranée-Infection
19-21, boulevard Jean Moulin
13005 MARSEILLE

Sommaire

RESUME ANALYTIQUE DES ACTIVITES 2016	2
1 – MISSIONS ET ORGANISATION DU CNR	5
1.1. – Rappel des missions et objectifs majeurs du CNR	5
1.2. – Liste des personnels impliqués dans les thèmes de recherche du CNR.....	5
1.3. – Locaux et équipements du CNR	8
1.3.1. Les locaux	8
1.3.2. Equipement	11
1.4. – Description de la démarche qualité du laboratoire.....	14
2 – ACTIVITÉS d’EXPERTISE	15
2.1. – Organisation des plateformes techniques du CNR.....	16
2.2. – Activité de sérologie	20
2.3. – Activité de détection moléculaire.....	22
2.4. – Activité de culture.....	23
2.5. – Souchier de microorganismes fastidieux	24
2.6. – Réseau de partenaires.....	29
2.7. – Coopérations institutionnelles	29
2.8. – Rapports avec les pays étrangers	30
3 – ACTIVITÉ de SURVEILLANCE	32
3.1. – Réseau de partenaires.....	33
3.1.1. Collaboration avec l’Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l’Alimentation, de l’environnement et du travail	33
3.1.2. Collaborations avec l’ECDC	33
3.1.3. Collaborations avec l’ESCMID	34
3.2. – Facturation de analyses	34
3.3. – Surveillance des rickettsioses, de la fièvre Q et des bartonelloses	35
3.3.1. Diagnostic de la fièvre Q	35
3.3.2. Diagnostic des rickettsioses	39
3.3.3. Diagnostic des bartonelloses	42
3.3.4. Représentativité des données du CNR	46
3.4. – Contribution à la surveillance nationale	46
3.5. – Surveillance de la résistance des pathogènes aux anti-infectieux	46
4 – ACTIVITÉS d’INFORMATION, de FORMATION et de CONSEIL	47
4.1. – Former et enseigner les maladies infectieuses et les maladies tropicales.....	48
4.2. – Formation permanente.....	50
4.4. – Le site Web	51
5 – TRAVAUX DE RECHERCHE ET PUBLICATIONS	52
5.1. – Travaux en cours.	53
5.2. – Publications 2016.....	55
5.3. – Communications 2016	58
6 – EVOLUTION DU CNR EN 2017	59
6.1. – Déménagement au sein de l’Institut hospitalo-Universitaire Méditerranée-Infection..	60

RESUME ANALYTIQUE DES ACTIVITES DE L'ANNEE 2015

En 2016, le CNR des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* a reçu **13890** échantillons de sérum provenant de **11309** patients. Tous les sérums ont été testés pour la présence d'anticorps contre *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* sp. et *Bartonella* sp. De plus, **7945** échantillons biologiques divers provenant de **5180** patients ont été reçus pour culture et/ou détection moléculaire. Pour les diagnostics de rickettsiose, fièvre Q et bartonellose, les échantillons de sérum étaient adressés comme demandes primaires dans 68,9, 60,3 et 56,7%, respectivement, et les autres types d'échantillons dans 90,9, 82,0 et 64,9%, respectivement. L'année 2016 n'a été marquée par aucune épidémie des maladies infectieuses surveillées par le CNR, notamment aucune épidémie de fièvre Q. En 2016, le CNR a diagnostiqué **177** nouveaux cas de fièvre Q aiguë (- 19% par rapport à 2015), **93** nouveaux cas de fièvre Q chronique (+ 82% par rapport à 2015), **62** nouveaux cas de rickettsioses (- 1,6% par rapport à 2015) et **158** nouveaux cas de bartonelloses (- 4% par rapport à 2015=163).

Au plan épidémiologique, nous avons observé en France métropolitaine une diminution du nombre de diagnostics de fièvre Q aiguë entre 2015 et 2016 (171 vs 134 cas, respectivement, -22%) mais une augmentation du nombre de diagnostics de formes focalisées de la fièvre Q (fièvre Q chronique) de 42 à 87 cas (+107%). En Guyane française, le nombre de diagnostics de fièvre Q aiguë (43) est resté inchangé entre 2015 et 2016. Nous avons avec les infectiologues guyanais publié une mise au point sur la fièvre Q dans ce département d'outre-mer (5). De plus, nous avons montré que la fièvre Q peut se compliquer de lymphome, soit à grandes cellules B soit folliculaire, possiblement par infection des cellules dendritiques plasmocytoïdes et hyper-production d'interleukine 10 (12). Dans une autre étude, nous avons démontré que la fièvre Q aiguë peut se compliquer d'endocardite, alors que cette lésion était jusque-là considérée comme une conséquence de la fièvre Q chronique (10). Ces endocardites aiguës sont le résultat d'un syndrome des antiphospholipides stimulé par *C. burnetii* et peuvent être détectées par dosage des anticorps anti-cardiolipines (10). Au Brésil, nous avons montré que *C. burnetii* était responsable de 2,5% des endocardites à hémocultures négatives (14). Nous avons également publié un rare cas d'endocardite de l'enfant causée par un nouveau génotype de *C. burnetii* (11). Enfin, nous avons détecté une nouvelle espèce de *Coxiella*, *Candidatus Coxiella massiliensis*, dans les biopsies cutanées et les tiques de 5 patients présentant un tableau de scalp escar and neck lymphadenopathy (SENLAT) (13).

Au plan diagnostique, nous avons montré en 2016 l'utilité de la lyophilisation des échantillons de sérum pour augmenter la sensibilité de détection moléculaire de *C. burnetii* de 30% chez les patients suspects de fièvre Q (7). Nous avons aussi inclus le TEP-scanner parmi les outils d'exploration et de diagnostic des infections focalisées à *Coxiella burnetii* (1, 9). Cet outil nous a permis de mettre en évidence que ces infections focalisées étaient multiples dans 42% des cas, et que les localisations ostéo-articulaires et lymphatiques étaient plus fréquentes qu'initialement suspectées (3).

Au plan thérapeutique, nous avons publié une étude rétrospective sur la prise en charge des infections vasculaires au cours de la fièvre Q (6). Etant donné la sévérité de ces infections, nous recommandons une antibioprophylaxie par doxycycline et hydroxychloroquine chez les patients porteurs d'anévrisme ou de prothèse vasculaire et développant une fièvre Q aigüe, sur le même modèle que celle proposée aux patients valvulopathes (6).

Enfin, nous avons montré la contribution du séquençage génomique à l'étude de la fièvre Q (8). Nous avons également mis au point un modèle murin d'infection respiratoire par *C. burnetii* par aérosols (4) et avons aussi observé que *C. burnetii* induit la production de cytokines pro-inflammatoires (interféron alpha) et de chémokines par les cellules dendritiques plasmocytoïdes (2), cellules qui sont connues pour leur rôle dans l'immunité anti-virale.

Pour ce qui est des rickettsies, le nombre de diagnostics de rickettsioses faits au CNR a augmenté, avec 62 diagnostics (vs 63 en 2015, -1.6%), dont 16 cas de SENLAT (vs 12 en 2015), 15 fièvres boutonneuses méditerranéennes (vs 12), 12 infections à *Rickettsia africae* (vs 17) en 2015, 9 cas de typhus murin (vs 5), 8 infections à *Rickettsia sibirica* subsp. *mongolitimonae* (vs 11), un cas d'infection à *R. massiliae* et un cas de typhus des broussailles.

Par ailleurs, l'année 2016 a été marquée par la démonstration que l'infection par *R. conorii* active le complément, résultant en une sécrétion de cytokines (19), et que l'infection des cellules endothéliales s'accompagne d'une sécrétion de cytokine B10 inductible (20).

Nous avons également décrit le rôle de *R. massiliae* comme agent de SENLAT (25) et les caractéristiques épidémiocliniques des infections à *R. sibirica mongolitimonae* en France (24). Toujours en France, nous avons étudié 248 tiques prélevées sur 200 patients et avons détecté *R. slovaca*, *R. raoultii* dans des *Dermacentor*, *R. massiliae* et *R. conorii* dans des *Rhipicephalus*, et *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia* sp. Et *Rickettsia* sp. dans des *Ixodes* (29). Nous avons aussi diagnostiqué 0.1%, 0.6%, 2.2% et 1.5% d'infections à *Neorickettsia sennetsu*, rickettsies du groupe boutonneux, *R. typhi* et *Orientia tsutsugamushi* chez 2225 patients thaïlandais fébriles par sérologie (22). En revanche, nous n'avons détecté aucune séroprévalence contre les pathogènes associés aux arthropodes dans les îles Samoa, confortant l'idée que ces microorganismes ne sont pas présents en Océanie (27).

Nous avons également détecté une nouvelle espèce de rickettsie, *Candidatus R. wissemannii* dans des tiques molles (*Ornithodoros hasei*) de chauve-souris de Guyane française (17), et une ehrlichia proche d'*E. minasensis* dans une tique *Rhipicephalus annulatus* en Polynésie française (18). En Algérie, nous avons identifié des bactéries associées aux arthropodes de chiens, chats, bovins, ovins, chauve-souris, hérissons et sangliers : *C. burnetii*, *B. henselae*, *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii*, *Ehrlichia canis*, *R. massiliae* et *R. conorii* chez les chiens, *R. felis*, *B. henselae* et *B. clarridgeiae* chez les chats, *B. tamiiae* et *C. burnetii* chez les chauve-souris, *R. aeschlimannii* et *R. massiliae* chez les bovins, *R. slovaca* et *R. massiliae* chez les sangliers, *R. massiliae* chez les ovins et *R. felis* chez les hérissons (26,31). En Côte d'Ivoire, nous avons détecté dans différentes espèces de tiques *R. africae*, *R. aeschlimannii*, *R. massiliae*, *C. burnetii*, *Borrelia* sp. , *Ehrlichia ruminantium*, ainsi que de

plusieurs nouvelles espèces potentielles dont *Candidatus Borrelia africana*, *Candidatus B. ivorensis*, *Candidatus Anaplasma ivorensis*, *Candidatus Ehrlichia urmitei*, *Candidatus E. rustica* et *Candidatus Wolbachia ivorensis* (32). En République Tchèque, nous avons détecté *R. raoultii* et *R. helvetica* dans des tiques *Dermacentor* (35). En Roumanie, nous avons détecté *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, *R. conorii*, *R. monacensis*, *R. raoultii* et *R. slovacica* dans des tiques prélevées sur des chiens (36).

Nous avons également étudié les plasmides de rickettsies (30), le génome de *R. raoultii* (23), publié des revues sur le typhus épidémique (15), *R. felis* (21), et émis l'hypothèse que les *Aedes* pourraient également transmettre *R. felis* (16).

Au cours de l'année 2016, nous avons eu moins de diagnostics d'infections à *Bartonella* par rapport à 2015, avec 158 patients (-4%), dont 135 maladies des griffes du chat (vs 143, -5%), 16 endocardites (vs 18, -11%) et 4 formes viscérales, sans que les méthodes diagnostiques n'aient changé. Par ailleurs, le CNR a participé à l'étude de la valeur de la PCR-electrospray ionization mass spectrometry pour le diagnostic d'un cas d'endocardite à *B. henselae* (37). Nous avons mis en évidence la transmission par les poux de corps de *B. quintana* aussi bien que *Yersinia pestis* dans études paléomicrobiologiques (38), et avons détecté deux nouvelles espèces potentielles de *Bartonella* dans des tiques molles (*Ornithodoros hasei*) et le sang de chauves-souris *Noctilio albiventris* et *Pteronotus parnellii* de Guyane française (39). Enfin, nous avons isolé *B. henselae*, *B. doshiae*, *B. schoenbuchensis* et *B. tribocorum* dans le sang de patients qui présentaient des symptômes subjectifs après piqure de tique (40).

1. MISSION ET ORGANISATION DU CNR

1.1 Rappel des missions et objectifs majeurs du CNR

Le Centre National de Référence des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* (CNR), créé en 1985, a vu son agrément renouvelé par le ministère du Travail, de l'Emploi et de la Santé pour la période du 1^{er} janvier 2017 au 31 décembre 2021 (JORF n°0058 du 09-03-2017, texte n°20). Le CNR reçoit plus de **20 000** prélèvements (sérums, sang, biopsies diverses et arthropodes) par an de plus de **300 laboratoires** publics et privés de France et de nombreux pays étrangers afin d'effectuer le diagnostic d'infections à bactéries intra-cellulaires de culture difficile. Le CNR diagnostique les infections causées par les différentes espèces de rickettsies, *Coxiella burnetii* et *Bartonella*.

Les missions du CNR des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* incluent :

- Le diagnostic sérologique, par culture et moléculaire des infections causées par les bactéries des genres *Rickettsia*, *Bartonella*, *Coxiella*, *Anaplasma* et *Ehrlichia*
- L'expertise concernant la microbiologie et la pathogénie des bactéries des genres *Rickettsia*, *Coxiella* et *Bartonella*
- La contribution à la surveillance épidémiologique des maladies causées par ces bactéries
- L'alerte par l'information immédiate de Santé Publique France et du ministère de la Santé de toute constatation pouvant avoir des répercussions sur l'état sanitaire de la population
- Le conseil des pouvoirs publics, des agences de sécurité sanitaire et des professionnels de santé

Un site web permettant de consulter l'ensemble des fiches d'information sur les domaines d'expertise du CNR est accessible à l'adresse suivante :

<http://www.mediterranee-infection.com/article.php?laref=349&titre=centre-national-de-reference-des-rickettsia-coxiella-et-bartonella>

1.2 Liste des personnels impliqués dans les thèmes de recherche du CNR

Enseignants chercheurs et chercheurs

Professeurs des Universités-Praticiens Hospitaliers (Université Aix-Marseille – Assistance Publique/Hôpitaux de Marseille)

Philippe Brouqui
Florence Fenollar
Pierre-Edouard Fournier
Hubert Lepidi
Jean-Louis Mège
Philippe Parola
Didier Raoult

Professeurs des Universités

Anthony Levasseur

**Chargés de Recherche CR1
(CNRS)**

Eric Ghigo

**Chargés de Recherche CR1
(IRD)**

Oleg Mediannikov

**Maîtres de Conférence – Praticiens Hospitaliers
(Université Aix-Marseille – Assistance Publique/Hôpitaux de Marseille)**

Emanouil Angelakis
Matthieu Million

**Maîtres de Conférences
(Université Aix-Marseille)**

Gérard Aboudharam

**Maîtres de Conférence – Chaire Exceptionnelle
(CNRS)**

Vicky Merhej

**Praticiens Hospitaliers
(Assistance Publique/Hôpitaux de Marseille)**

Philippe Gautret

**Maîtres de Conférence – Chaire Exceptionnelle
(IRD)**

Fadi Bittar

Ingénieurs et Equipe Technique

Ingénieurs de Recherche

Saïd Azza (Aix Marseille Université)
Yassina Bechah (Inserm)
Khalid El Karkouri (Aix Marseille Université)
Catherine Robert (Aix Marseille Université)
Dipankar Bachar (CNRS)
Jacques Bou Khalil (CNRS)
Caroline Blanc-Tailleur (Aix Marseille Université)

Ingénieurs d'étude

Marielle Bedotto (Assistance Publique/Hôpitaux de Marseille)
Sylvain Buffet (Assistance Publique/Hôpitaux de Marseille)
Emeline Baptiste (Assistance Publique / Hôpitaux de Marseille)
Aurelia Caputo (Assistance Publique / Hôpitaux de Marseille)
Malgo Kowalczevska (Aix Marseille Université)
Jérémy Delerce (Assistance Publique / Hôpitaux de Marseille)
Amira Ben Amara (Aix Marseille Université)
Pascal Weber (CNRS)
Fabrizio di Pinto (Assistance Publique / Hôpitaux de Marseille)
Jean-Pierre Baudoin (Assistance Publique / Hôpitaux de Marseille)
Nathalie Wurtz (Aix Marseille Université)

Techniciens

Assistance Publique / Hôpitaux de Marseille
Annick Abeille
Bernard Amphoux
Lina Barassi

Jean-Michel Berenger
Audrey Borg
Catherine Brossard
Julie Colin
Olivier Costagliola
Emilie Doudon
Julie Piatti
Dounia Mouelhi
Clio Grimaldier
Thierry Gros
Priscilla Jardot
Stéphanie Junoy
Elsa Prudent
Marion Le Bideau
Gilles Liotaud
Marie-Charlotte Mati
Ti Tien Nguyen
Nathalie Duclos
Céline Perreal
Pascale Raymond
Céline Cal
Julie Rodriguez
A. Chanteloup

Aix Marseille Université / IHU Méditerranée Infection

Muriel Militello
Enora Tomei
Jean-Marc Feurestein
Jérôme Terras

Cadres médicaux Assistance Publique / Hôpitaux de Marseille

Gilbert Caruso
Véronique Filosa
Richard Salacha
Bérangère Pocachard
Laurence Thomas
Salim Omarjee
Magali Dulac

Equipe administrative

Cadres administratifs et administratifs Assistance Publique / Hôpitaux de Marseille

Laure Gambarelli (Cadre)
Fatma Zaourar
Priscilla Barraco
Ivana Domingo
Charlotte Salaun
Elise Vigneron
Christine Galiani
Olga Loukhneva
Abdelkrim Ouanezar

Administratifs Recherche : Aix-Marseille Université et EPST

Isabelle Combe
Cathy Corona
Francine Vérin (CNRS)
Sacy Nadaradjane (IRD)

Pierre-Edouard FOURNIER, Jean-Louis MEGE et Didier RAOULT possèdent une autorisation d'expérimentation animale permettant de conduire des recherches dans les deux animaleries A3 du laboratoire. Les activités de sérologie du CNR font l'objet d'une accréditation COFRAC EN ISO 15189 (version 2007) sous la référence 8-3446 rév 0. Le Pr Fournier possède une habilitation pour la détention des souches bactériennes faisant l'objet d'une surveillance particulière (MOT) : *R. prowazekii* et *R. rickettsii* sous la référence ADE-021722012-9).

1.3 Locaux et équipement du CNR

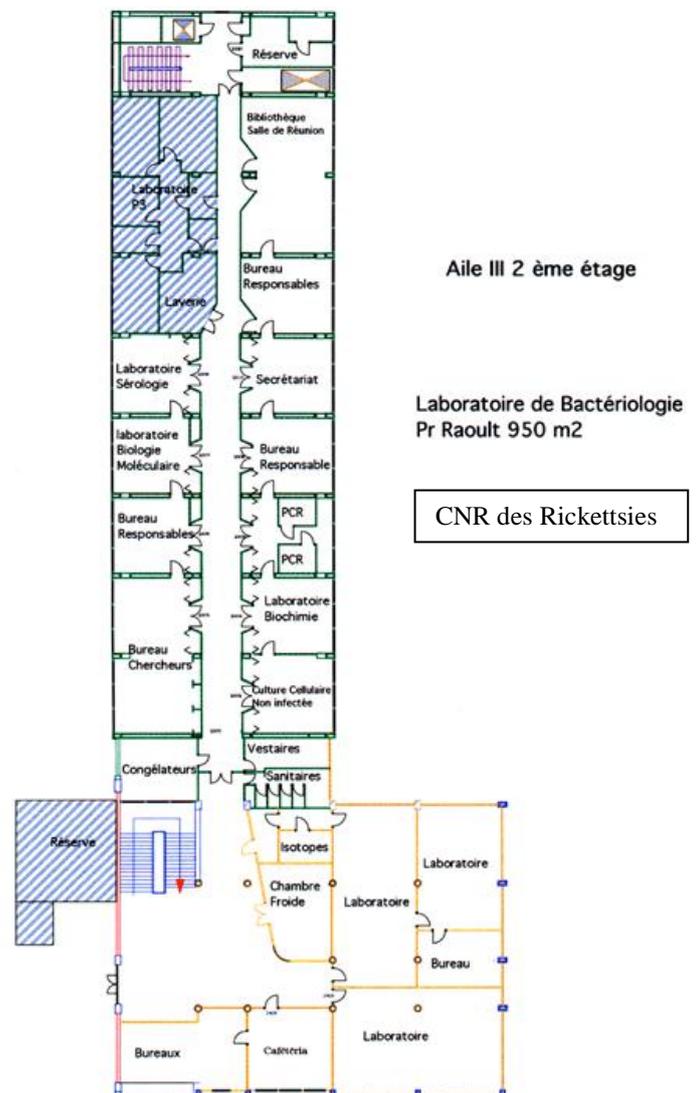
1.3.1 Les locaux

Le laboratoire dédié au CNR occupe tout le deuxième étage de l'aile III de la Faculté de Médecine de Marseille, ainsi que les pièces adjacentes et le laboratoire NSB3 commun, pour une surface de 1 590 m².

Le laboratoire occupe également une aile du 3^e étage, et une partie du 4^e étage. La surface totale s'étend actuellement sur 2 667m². Au sein du laboratoire se situent les bureaux des responsables médicaux, le secrétariat pédagogique, le service financier et le secrétariat, la bibliothèque/salle de réunion, le laboratoire P3, des laboratoires de sérologie, de biologie moléculaire, de préparation PCR, avec deux boxes fermés, de biochimie, et de culture cellulaire non infectée ou infectée par des pathogènes de niveau 1 ou 2, une pièce dédiée aux congélateurs, sécurisée (bascule automatique sur des réserves de CO₂ en cas de rupture du froid, une réserve et un vestiaire.

A l'extérieur de cette entité se trouvent trois laboratoires (immunologie - physiopathologie, biologie moléculaire et sérologie), les bureaux des ingénieurs bioinformaticiens et des cadres administratifs, la cafétéria – salle de détente, une chambre froide, la pièce réservée aux isotopes, ainsi qu'une réserve et un autre vestiaire.

Au troisième étage se trouve le laboratoire de biologie moléculaire dédié aux activités de séquençage génomique et métagénomique. L'équipe génomique-protéomique occupe également l'aile rouge au



troisième étage, où se trouvent également trois bureaux pour des étudiants. Au 6^{ème} étage se trouve l'insectarium où sont confinés les élevages de tiques, puces et poux.

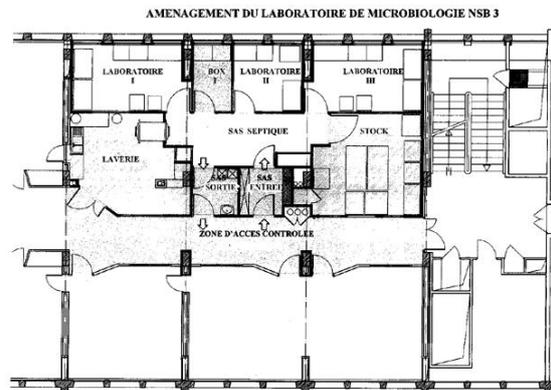
Tous les accès au laboratoire central, au P3, à toutes les pièces ouvrant sur les parties communes de la faculté ainsi que certaines pièces intérieures sont soumises à différents niveaux de contrôle par des cartes magnétiques, fabriquées et gérées en interne par un logiciel spécifique.

Laboratoire de Sécurité biologique NSB3 du CNR

Le laboratoire de sécurité microbiologique de niveau 3 (NSB 3) du CNR, situé au 2nd étage de la Faculté de Médecine, dans l'aile verte, est constitué de zones à atmosphère contrôlée (ZAC), au sein desquelles sont manipulés des prélèvements biologiques pathogènes, des animaux infectés et des micro-organismes de classe 3.

Ce laboratoire a une surface totale de 105 m². Il est constitué de 9 ZAC en dépression par rapport à l'extérieur (Cf. schéma) pour éviter tout transfert des micro-organismes de l'intérieur vers l'extérieur du laboratoire :

- Sas entrée : - 20 Pascals
- Sas sortie : - 20 Pascals
- Sas septique : - 60 Pascals
- 3 laboratoires : - 40 Pascals
- box : - 40 Pascals
- salle stock : - 40 Pascals
- laverie : - 20 Pascals



Des afficheurs, localisés dans la zone d'accès contrôlé et dans le sas septique, permettent de visualiser les dépressions régnant dans les différentes zones. Une centrale de traitement d'air, installée sur le toit du bâtiment, assure :

- le soufflage d'air neuf, après passage sur différents filtres de dépoussiérage, dans le laboratoire avec un taux de renouvellement horaire de 25 volumes par heure.
- l'extraction de l'air des différentes zones du laboratoire, qui passe sur 2 batteries de filtres absolus (HEPA) de façon à empêcher tout relargage dans l'environnement de germes provenant du laboratoire.

Les 3 sas sont équipés de téléphones permettant de communiquer avec l'extérieur. Les sas entrée et sortie sont pourvus de portes asservies électriquement, empêchant leur ouverture simultanée. Un banc de passage est installé dans le sas entrée permettant au personnel, après la mise de surchausses, de revêtir les vêtements de protection (combinaison, charlotte, gants et tabliers plastiques). Le sas sortie est équipé d'un lavabo à commande par infrarouge. Les effluents liquides sont collectés dans des bacs de rétention et décontaminés par voie chimique. Un passe-cassette,

situé entre le sas septique et la laverie, assure l'entrée et la sortie du matériel après décontamination par voie chimique. Les surfaces (sols, murs et plafonds) sont lisses, pour une facilité de nettoyage et une décontamination efficace. Entre le sas septique et la laverie se trouve un autoclave (Subtil Crépieux) à double entrée, qui assure la décontamination des déchets liquides et solides ainsi que du matériel contaminé.

Laboratoire commun de microbiologie NSB 3

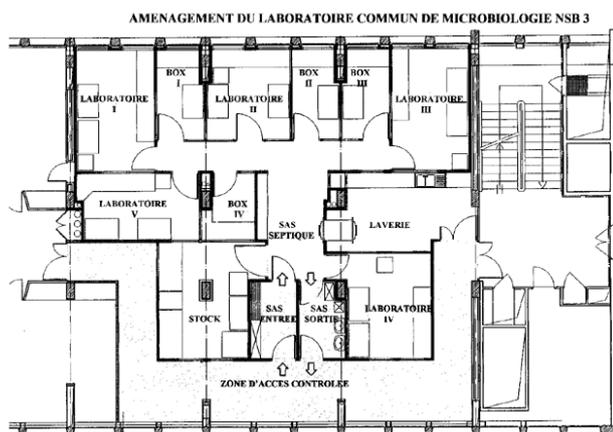
Outre le laboratoire NSB3 propre, le CNR a accès au laboratoire NSB3 commun, situé au 3^{ème} étage de la Faculté de Médecine, dans l'aile verte, est constitué de zones à atmosphère contrôlée (ZAC), au sein desquelles sont manipulés des prélèvements biologiques pathogènes, des animaux infectés, des micro-organismes de classe 3 ainsi que des OGM.

Cette structure se caractérise, par rapport aux autres laboratoires NSB 3, par sa capacité à :

- recevoir plusieurs équipes de recherche en parallèle,
- abriter une animalerie isotechnique A3.

Ce laboratoire a une surface totale de 160 m². Il est constitué de 14 ZAC en dépression par rapport à l'extérieur (Cf. schéma) pour éviter tout transfert de micro-organismes de l'intérieur vers l'extérieur du laboratoire :

- sas entrée :	- 20 Pascals
- sas sortie :	- 20 Pascals
- sas septique :	- 40 Pascals
- 4 laboratoires :	- 60 Pascals
- 1 animalerie A3 :	- 60 Pascals
- 4 boxs :	- 60 Pascals
- salle stock :	- 60 Pascals
- laverie :	- 10 Pascals



Des afficheurs, localisés dans la zone d'accès contrôlé et dans le sas septique, permettent de visualiser les dépressions régnant dans les différentes zones.

Une centrale de traitement d'air, installée sur le toit du bâtiment, assure :

- le soufflage d'air neuf, après passage sur différents filtres de dépoussiérage, dans le laboratoire avec un taux de renouvellement horaire de 20 volumes par heure.
- l'extraction de l'air des différentes zones du laboratoire, qui passe sur 2 batteries de filtres absolus (HEPA) de façon à empêcher tout relargage dans l'environnement de germes provenant du laboratoire.

Les 3 sas sont équipés de téléphones permettant de communiquer avec l'extérieur.

Les sas entrée et sortie sont pourvus de portes asservies électriquement, empêchant leur ouverture simultanée.

Un banc de passage est installé dans le sas entrée permettant au personnel, après la mise de surchausses, de revêtir les vêtements de protection (combinaison, charlotte, gants et tabliers plastiques).

Le sas sortie est équipé de 2 lavabos à commande par infra-rouge. Les effluents liquides sont collectés dans des bacs de rétention et décontaminés par voie chimique.

Un passe-cassette, situé entre le sas septique et la laverie, assure l'entrée et la sortie du matériel après décontamination par voie chimique.

Les surfaces (sols, murs et plafonds) sont lisses, pour une nettoyabilité et une décontamination efficace.

Entre le sas septique et la laverie se trouve un autoclave (Lequeux) à double entrée, avec joints auto-gonflants, qui assure la décontamination des déchets liquides et solides ainsi que du matériel contaminé. Le volume de la chambre est de 450 litres. Cet autoclave piloté par informatique possède plus de 10 cycles différents de stérilisation. Toutes les données d'un cycle après stérilisation sont imprimées de façon à assurer une traçabilité des destructions réalisées.

1.3.2. Equipement

1. Sérologie

- 1 étuve ThermoScientific (Aerus)
- 1 congélateur antigènes -80°C
- 20 congélateurs sérums -80°C
- 1 réfrigérateur
- 3 ordinateurs
- 1 imprimante en réseau
- 2 microscopes à fluorescence (Zeiss)
- 1 microscope à fluorescence (Olympus)

2. Biologie moléculaire – séquençage génomique

- 1 pyroséquenceur GS Junior
- 1 pyroséquenceur Ion Torrent (Applied Biosystems)
- 4 pyroséquenceurs MiSeq (Illumina)
- 2 séquenceurs 3130 (Applied Biosystem)
- 1 SmartCycler
- 10 Thermocyclers conventionnels (Applied biosystems, Eppendorf, Biometra)
- 5 thermocycleurs en temps réel CFX 96 (BioRad)
- 5 extracteurs d'ADN EZ-One (QIAGEN)
- 5 broyeur Fastprep
- 1 bain sec
- 1 Hydroshear (GeneMachines)
- 7 hottes BIOCAP DNA (Bioblock)
- 1 appareil à électroporation (Biorad)
- 1 Chambre UV + Camera CCD Quantum (Appligene)
- 6 cuves de migration / gels PCR (Eurogentec)

- 5 thermocycleurs (Applied Biosystem)
- 1 table UV + Imager (Appligene)
- 1 appareil pour électrophorèse à champ pulsé (Biorad)
- 1 appareil à électroporation (Biorad)
- cuve «vacuum blotter » (Biorad)
- 1 four à hybridation (Appligene)
- 1 hotte chimique (Kötterman)
- 1 Bioanalyser (Agilent)
- 1 extracteur Fast Prep (Savant)
- 1 speed vac (Savant)
- 1 centrifugeuse Beckman à plaque (Allegra X- 15R)
- 1 coulter Beckman Z2
- Lyophilisateur Cosmos 2 (Cryotec)

3. Biologie cellulaire

- 1 thermoshake (Ed Bühler)
- 1 ultra-centrifugeuse de paillasse (Beckman)
- 1 hotte à flux laminaire
- spectrofluorimètre pour plaques (Bio-Teck)
- 1 thermoshake (Gerhardt)
- 2 spectrophotomètres (Beckman, Shimadzu)
- broyeur de cellules (Bioblock)
- bombe à cavitation
- UV crosslinker (Bioblock)
- incubateurs à CO₂
- étuves sèches
- four Pasteur
- 4 hottes à flux laminaire
- 1 sorbonne (Kotterman)
- 1 compteur à scintillation (Packard)
- récupérateur de cellules (Wesbart)
- détecteur de radioéléments

4. Microscope pour l'étude morphologique et fonctionnelle des cellules

- Microscopes inversés
- 3 microscopes optiques (dont 2 avec appareil photo)
- 3 microscopes à fluorescence
- loupe binoculaire avec camera
- microscope confocal (Leica)
- microscope biphotonique (Leica)

5. Culture en laboratoire NSB3 du CNR

- 1 PSM (Holten LaminAir)
- 1 PSM HeraSafe (Heraeus)
- 1 bain-marie (Firlabo)

- 1 centrifugeuse (Heraeus)
- 1 microscope inversé (Zeiss)
- 1 microscope à fluorescence (Olympus)
- 1 Cytospin 4 (Thermo Scientific)
- 3 incubateurs secs
- 2 incubateurs à Co2 HeraCell 240 (Heraeus)
- 1 poste informatique
- 1 réfrigérateur – congélateur à -20°C
- 3 microscopes optiques (dont 2 avec appareil photo)
- 3 microscopes à fluorescence
- loupe binoculaire avec camera
- microscope confocal (Leica)
- microscope biphotonique (Leica)
- Spectrometre de masse MALDI-TOF Microflex (Bruker Daltonics)

6. Dans le laboratoire NSB3 commun

- 1 PSM (Holten LaminAir)
- 1 PSM HeraSafe (Heraeus)
- 1 bain-marie (Firlabo)
- 1 centrifugeuse (Heraeus)
- 1 microscope inversé (Zeiss)
- 1 microscope à fluorescence (Olympus)
- 1 Cytospin 4 (Thermo Scientific)
- 3 incubateurs secs
- 2 incubateurs à Co2 HeraCell 240 (Heraeus)
- 1 poste informatique
- 1 réfrigérateur – congélateur à -20°C
- 3 microscopes optiques (dont 2 avec appareil photo)
- 3 microscopes à fluorescence
- loupe binoculaire avec camera
- microscope confocal (Leica)
- microscope biphotonique (Leica)

Nous avons 2 boxes et 1 laboratoire dédiacés, nous possédons :

- 3 postes de sécurité microbiologique de type II
- Armoire chauffante pour animaux de laboratoire
- Etuve à CO₂
- Bain-marie
- 2 réfrigérateurs-congélateurs

et nous partageons avec les autres équipes :

- Microscope optique
- Microscope inversé
- Congélateur à -80°C
- 3 centrifugeuses

- Ultracentrifugeuse
- Container à azote liquide
- Micro-ordinateur relié au réseau de la faculté avec imprimante et scanner

7. Equipement informatique propre au laboratoire

Les 240 ordinateurs du laboratoire sont équipés d'une connexion au réseau de l'Université avec accès libre à Internet. Il y a 20 imprimantes laser réseaux réparties sur tout le laboratoire.

Les 2 séquenceurs ainsi que le Lightcycler disposent chacun d'un ordinateur et d'une imprimante jet d'encre couleur, les 5 CFX sont chacun équipés d'un ordinateur.

Les BioInformaticiens disposent de 8 stations de travail très haute performance (multicoeur, 12 Go de Ram minimum).

1 serveur de sauvegarde est à disposition sur le réseau, d'une capacité de 15 To, chaque utilisateur peut avoir un compte réservé.

A disposition également, 1 serveur de calcul partagé de 196 cœurs et 1 To de mémoire associé à 64 To de disque pour les calculs importants du laboratoire.

1.4 Description de la démarche qualité du laboratoire

Le CNR s'est doté d'un guide de bonne exécution des analyses (GBEA) pour toutes les activités de culture et sérologie du laboratoire. Les activités de sérologie du CNR ont fait l'objet d'une accréditation COFRAC EN ISO 15189 (version 2007) sous la référence 8-3446 rév 0. Un GBEA a été rédigé pour les activités de de détection moléculaire. L'accréditation des activités de biologie moléculaire est prévue pour 2017, après le déménagement du CNR dans l'Institut Hospitalo-Universitaire Méditerranée-Infection. Chaque nouveau lot d'antigène de sérologie est testé avec des sérums témoins de titres connus. Chaque nouveau témoin positif de PCR est testé en dilution, de 1 à 10⁶ copies. La stérilité des lignées cellulaires servant de support de culture est testée chaque mois, en particulier à la recherche d'une contamination par mycoplasmes. Le CNR ne participe pour l'instant pas à un contrôle de qualité externe mais a proposé aux laboratoires de microbiologie des CHU français, à l'occasion d'une enquête sur les moyens diagnostiques de la fièvre Q en France, d'en mettre en place un. Ce contrôle de qualité externe, retardé en raison du déménagement du CNR dans les locaux de l'IHU Méditerranée-Infection en 2017, sera mis en place en 2018.

2 – ACTIVITÉS d'EXPERTISE

2. ACTIVITES D'EXPERTISE

2.1 Organisation des plateformes techniques du CNR.

Les ressources techniques du laboratoire sont organisées autour de 7 pôles divisés en plateformes thématiques interdépendantes.

Chaque pôle comprend un encadrement scientifique par des chercheurs de l'unité, des ingénieurs et des techniciens. L'ensemble de l'équipe de chaque plateforme assure l'entretien, la formation aux utilisateurs, la collecte et l'analyse des résultats, le développement des nouvelles techniques, etc.

Les Plateformes

1. Animalerie, expérimentation animale et production d'anticorps
2. NSB3: Manipulation des germes pathogènes en milieu de biosécurité 3
3. Cultures spéciales
4. Maintenance des systèmes de froid et de stockage et Souchiers
5. Plateforme microscopie pour l'étude morphologique et fonctionnelle des cellules, cytométrie.
6. Plateforme Génomique et Protéomique
7. Plateforme Transcriptomique
8. Plateforme immunologie et macrophages
9. Plateforme biologie moléculaire
10. Plateforme Sérologie et Western -Blot
11. Plateforme Bioinformatique
12. Pôle administratif

A. Plateforme Animalerie (responsable Philippe Parola, PU-PH)

Personnels

(Jean-Michel Berenger, technicien AP-HM; Claude Nappez, ingénieur d'étude Université, Anne-Marie Gottreau, ADT, Université)

Depuis l'année 2011 le développement de la plateforme « Animalerie » a permis le développement des élevages d'arthropodes (tiques poux, puces, moustiques, punaises et triatomes) et des programmes de recherche sur les interactions "arthropodes – microorganismes". Elle a recruté un technicien entomologiste (*Jean-Michel Bérenger, AP-HM*), et une aide laboratoire (*Anne-Marie Gottreau, Université*).

Les élevages de tiques et de poux sont effectués sur lapins.

Les élevages de moustiques sont effectués sur souris mais aussi sur membranes artificielles.

Les élevages de puces, punaises, et triatomes sur membranes.

Les élevages de tiques, poux et puces infectés par des rickettsies s'effectuent en conditions de

sécurité microbiologique de niveau 3 (NSB3).

B. Laboratoire de sécurité biologique niveau 3 (responsable Bernard La Scola, PU-PH)

Personnels

Karine Puggioni (Cadre technique, AP-HM), Nathalie Wurtz (Ingénieur d'études, Université), Muriel Militello (technicienne, Université)

- Les laboratoires NSB 3 sont constitués de zones à atmosphère contrôlée, au sein desquelles sont manipulés des prélèvements biologiques pathogènes, des animaux infectés et des micro-organismes de classe 3. Les 2 entités sont le laboratoire NSB3 de l'unité des rickettsies et le laboratoire NSB3 commun de la faculté de médecine. Le responsable scientifique des 2 laboratoires est le Pr Bernard La Scola. Le responsable technique est Madame Nathalie Wurtz. le Pr Fournier a fait l'objet d'une habilitation pour la détention des souches bactériennes faisant l'objet d'une surveillance particulière (MOT) : *R. prowazekii* et *R. rickettsii* sous la référence ADE-021722012-9).
- Le laboratoire NSB3 de l'Unité des Rickettsies a une surface totale de 105 m². Il est constitué de 9 ZAC en dépression par rapport et l'accès est contrôlé. Laboratoires et box sont équipés d'un matériel de base comprenant des Postes de Sécurité Microbiologique de type II, conformes à la norme NF X44-201 et qualifiés une fois par an au minimum (Tech Gen, Flux France). Ce laboratoire est dévolu au diagnostic microbiologique des infections liées aux bactéries de classe 3 en culture cellulaire. Les autres activités réalisées dans ce laboratoire sont la production de masse des bactéries de classe 3 en culture cellulaire utilisée ensuite comme antigènes de sérologie, comme témoins positif pour la détection moléculaire et pour les analyses de génomique et de protéomique.
- Le laboratoire NSB 3 commun de la faculté de médecine a une surface totale de 160 m². Il est constitué de 14 ZAC en dépression par rapport à l'extérieur avec une surveillance comparable à celle de celui de l'unité des Rickettsies. Il se caractérise, par rapport à celui de l'unité des rickettsies par sa capacité à abriter des animaux (souris, rats, cobayes, lapins) et des arthropodes (tiques, poux, puces) infectés par des bactéries de classe 3. Enfin il se caractérise par la présence d'un lyophilisateur ainsi que l'ensemble des équipements du souchier NSB3 (ampoules lyophilisées sous coffre, azote et -80°C). C'est dans ce laboratoire que sont réalisées toutes les expérimentations animales avec les agents de classe 3.

C. Plateforme Gestion du Froid et Souchiers (responsable Pierre-Edouard Fournier, PU-PH)

Le CNR conserve depuis de nombreuses années les souches bactériennes d'espèces de culture fastidieuse, en particulier intra-cellulaires strictes ou facultatives : *Rickettsia* sp., *Bartonella* sp., *C. burnetii*.

A ce jour, plus de 1500 souches bactériennes sont conservées. L'importance de cette collection, la Collection de Souches de l'Unité des Rickettsies:

(CSUR, WDCM 875, <http://www.mediterranee-infection.com/article.php?leref=14&titre=collection-de-souches>), est d'autant plus grande que la majorité de ces souches est unique. Cette collection conserve actuellement 662 souches de *Bartonella*, 215 souches de *Rickettsia* et 235 souches de *Coxiella burnetii*, constituant les plus grandes collections mondiales de souches des bactéries de ces trois genres bactériens. Témoins de son implication dans la conservation et l'étude des bactéries de culture difficile, la majorité des nouvelles espèces de *Rickettsia* décrites officiellement depuis 2001 (*R. heilongjiangensis*, *R. asiatica*, *R. tamurae*, *R. raoultii*) ont été décrites par le CNR. La pérennisation de cette collection est donc particulièrement cruciale.

Conservation sécurisée des souches bactériennes

A- Situation actuelle

La conservation des souches bactériennes est actuellement essentiellement réalisée en congélateurs à -80°C et azote liquide. La gestion des stocks est réalisée manuellement, avec étiquetage des tubes et saisie de l'état des stocks en fichier Excel. Ce type de conservation par une seule méthode expose au risque de perte des souches en cas de panne mécanique ou électrique des congélateurs. Par ailleurs, l'étiquetage de chaque tube expose au risque de vol.

B- Objectifs

L'objectif avec le transfert dans l'Institut Hospitalo-Universitaire Méditerranée-Infection est de multiplier et sécuriser les moyens de conservation des souches bactériennes, avec un système de traçabilité optimisé permettant un suivi très précis des souches conservées.

C- Moyens prévus.

Il est prévu de multiplier les moyens de conservation, avec l'acquisition d'une biobanque automatisée permettant de stocker 1 million d'échantillons et souches à -80°C et 2 millions à -20°C. Les souches seront également conservées en azote gazeux à -196°C et sous forme lyophilisée à -20°C. Chaque appareil de congélation est équipé d'un système d'alarme visuelle et sonore qui envoie en cas de problème un message d'alarme aux agents de sécurité de la Faculté de Médecine de Marseille puis de prochainement l'IHU. De plus, les tubes dans lesquels sont conservées les souches sont anonymisés et identifiés par des codes-barres uniques reconnus par un lecteur automatisé. L'avantage d'un tel système est, outre l'anonymisation des tubes qui renforce la sécurité, est de permettre une traçabilité accrue de chaque tube et d'assurer une gestion optimisée des stocks. Une pièce de 200 m² sécurisée par cartes d'accès sera dédiée à la biobanque au sein de l'IHU.

D. Plateforme Microscopie pour l'étude morphologique et fonctionnelle des cellules (responsable Eric Ghigo, CR1 CNRS)

Personnels

Pascal Weber (Ingénieur d'Etude, CNRS), Audrey Borg (Technicien, AP-HM), Audrey Aversa (Technicien, AP-HM).

Description

Cette plateforme comprend trois parties: A) Les systèmes d'acquisition d'images, comptages, et microdissection. B) Les outils d'analyse et reconstruction d'images en 3D. C) Les bases de données des images produites dans notre laboratoire. Le matériel de cette plateforme est listé au paragraphe 1.3.2.4.

E. Plateforme Génomique (Responsable Pierre-Edouard Fournier, PU-PH).

Personnels

Catherine ROBERT (Ingénieur de Recherche, Université), Noemie LABAS (Technicien Université), Thi-Tien NGUYEN (Technicienne, AP-HM), Caroline BLANC-TAILLEUR (Ingénieur Université)

La plateforme est spécialisée dans le séquençage génomique des génomes bactéries intra-cellulaires et de virus. Cette activité en fait le premier centre de séquençage des microorganismes d'intérêt médical en France en termes de volume et d'impact des publications scientifiques, et la huitième plateforme au niveau mondial dans le domaine de la production et de la valorisation des génomes microbiens. En 2016, 113 génomes bactériens ont été séquencés par le laboratoire. Parmi ceux-ci figurait celui de *Rickettsia raoultii*.

F. Plateforme Protéomique (Responsable Eric Chabriere, PU).

Personnels

Saïd AZZA (Ingénieur Recherche, Université), Malgo KOWALCZEWSKA (Ingénieur Etudes, Université), Nicholas ARMSTRONG (IE, AP-HM), Christophe FLAUDROPS (IE, AP-HM).

La Plateforme de Protéomique comporte l'ensemble des équipements nécessaires pour réaliser des gels bidimensionnels y compris en triple marquage, l'équipement nécessaire pour réaliser l'identification des protéines par spectromètre de masse MALDI-TOF ou par Spectromètre de masse à *trappe* d'ions. La plateforme protéomique développe plusieurs types d'approches. Un premier type de projet consiste en l'étude fonctionnelle des protéines par les analyses génomiques. Une deuxième application de cette plateforme est la recherche de protéines antigéniques d'intérêt diagnostique dans la perspective de mise au point de tests sérologiques de troisième génération en forme de test multiplexé intégrant directement des protéines antigéniques en lieu et place des microorganismes entiers.

Une troisième approche de la plateforme est la protéomique comparative qui permet quant à elle de visualiser et d'identifier les variations d'expression dans un protéome associées à un phénotype du micro-organisme étudié. La technologie 2D-DIGE (2-Dimensional Differential in-Gel Electrophoresis) est adoptée pour sa reproductibilité et la fiabilité de ses résultats.

La technologie MALDI-TOF est également utilisée pour les analyses et l'identification de souches bactériennes et peut être appliquée à tout type de bactérie, soit isolée en culture soit dans différents types de prélèvements comme les tiques pour les rickettsies [12]. Cette activité est complètement intégrée à la routine de bactériologie du CNR.

G. Plateforme Bioinformatique (*responsable Pierre-Edouard Fournier, PU-PH*)

Personnels

K. El Karkouri (Ingénieur de Recherche, Université), A. Caputo (Ingénieur d'Etude, AP-HM), F. Armougon (Ingénieur de Recherche, IRD), O. Croce (Ingénieur de Recherche, CRNS), D. Bachar (Ingénieur d'Etude, CNRS), J. Delerce (Ingénieur d'Etude, AP-HM), E. Baptiste (Ingénieur d'Etude, AP-HM)

Depuis juin 2006, l'unité des Rickettsies a constitué une plateforme de bioinformatique, composée de 7 bioinformaticiens ingénieurs de recherche et d'étude. Les activités de ce groupe s'inscrivent autour de 4 axes dont les champs d'applications concernent la structure, l'évolution, la diversité, la pathogénicité et le diagnostic de micro-organismes :

A- Bioanalyse des génomes, métagénomes et diversité : les bioinformaticiens réalisent l'assemblage, l'annotation et l'analyse de données de génomique, métagénomique et diversité (16S) de bactéries et virus (voir publications). Les données sont issues de la plateforme de séquençage de l'unité dotée de pyroséquenceurs Roche GS-FLX+, Illumina Mi-Seq et Ion Torrent.

B- Développement et administration d'outils et de matériel : les bioinformaticiens développent des scripts de structuration et de traitement de données. Ils administrent les clusters et serveurs de calcul et de stockage de données et les banques et données biologiques (NR, COG, RDP-II, RickBase, MST, ...).

C- Services, communication et valorisation : les bioinformaticiens contribuent également à l'accompagnement et à la formation des masters, doctorants et postdoctorants. Ils réalisent la veille technologique, la présentation de résultats aux équipes de l'Unité dans une réunion hebdomadaire de génomique et la valorisation de ces résultats par la participation aux publications (voir publications).

2. 2. Activité de Sérologie

La sérologie est un outil de première intention pour le diagnostic et le suivi thérapeutique des maladies surveillées par le CNR.

A. Immunofluorescence indirecte

La sérologie se fait par immunofluorescence indirecte. Tous les antigènes sont cultivés en laboratoire de niveau de sécurité biologique 3. Les activités de sérologie du CNR ont fait l'objet d'une accréditation COFRAC EN ISO 15189 (version 2007) sous la référence 8-3446 rév 0.

Pour la fièvre Q, les antigènes de phase II sont obtenus par culture de *Coxiella burnetii* (souche Nine Mile) sur fibroblastes embryonnaires humains de type HEL. Les antigènes de phase I sont obtenus par réactivation du phénotype virulent par passage sur cobaye. La production de ces antigènes est identique aux méthodes précédemment publiées. Les valeurs seuils utilisées pour le diagnostic de fièvre Q aiguë sont $\geq 1:200$ et $\geq 1:50$ pour les IgG et les IgM de phase II, respectivement, et $> 1:800$ pour les IgG de phase I pour le diagnostic de fièvre Q chronique. Ceci permet un suivi sur 25 ans de l'incidence de la fièvre Q.

Pour le diagnostic sérologique des rickettsioses, les rickettsies sont produites sur cellules de rein de singe de type Véro pour les rickettsies du groupe boutonneux, à l'exception de *R. felis* qui est cultivée sur fibroblastes de crapauds de type XTC2, et sur fibroblastes murins de type L929 pour les rickettsies du groupe typhus. La production des antigènes, leur purification et les différentes techniques sérologiques pour le diagnostic des rickettsioses sont identiques aux méthodes publiées. Les valeurs seuils utilisées pour le diagnostic de fièvre boutonneuse méditerranéenne sont $\geq 1:128$ et $\geq 1:64$ pour les IgG et les IgM, respectivement, et $\geq 1:64$ et $\geq 1:32$ pour les IgG et les IgM, respectivement, pour le diagnostic des autres rickettsioses. En raison des réactions croisées entre antigènes, l'immunofluorescence indirecte peut être complétée par une adsorption croisée pour préciser contre quel antigène est dirigée la réponse anticorps.

Pour le diagnostic sérologique des bartonelloses, les *Bartonella* sont produites sur cellules endothéliales humaines de type ECV-304. La production des antigènes, leur purification et les différentes techniques sérologiques pour le diagnostic des rickettsioses sont identiques aux méthodes publiées. La valeur seuil utilisée pour le diagnostic de maladie des griffes du chat est $\geq 1:100$ pour les IgG, et $\geq 1:800$ pour les IgG pour le diagnostic d'endocardite.

Le laboratoire possède une collection importante d'antigènes originaires de tous les continents, ce qui permet d'adapter les pannels d'antigènes à l'épidémiologie des différentes zones d'endémie. Les antigènes testés pour un sérum donné en dépistage varient en fonction du lieu où les patients ont été contaminés. Ainsi, les patients européens sont testés contre *C. burnetii*, *B. henselae*, *B. quintana*, *A. phagocytophilum*, *R. conorii* subsp. *conorii*, *R. slovaca*, *R. sibirica* subsp. *mongolitimonae*, *R. massiliae*, *R. helvetica*, *R. felis*, et *R. typhi*. Les patients contaminés en Afrique sont testés contre *C. burnetii*, *B. henselae*, *B. quintana*, *R. conorii* subsp. *conorii*, *R. conorii* subsp. *israelensis*, *R. sibirica* subsp. *mongolitimonae*, *R. aeschlimannii*, *R. felis*, et *R. typhi*. Les patients contaminés en Asie sont testés contre *C. burnetii*, *B. henselae*, *B. quintana*, *R. conorii* subsp. *indica*, *R. japonica*, *R. honei*, *R. tamurae*, *R. helvetica*, *R. felis*, *R. typhi*, et *Orientia tsutsugamushi* souches

Karp, Kawazaki, Kato, et Gilliam. Les patients contaminés en Amérique sont testés contre *C. burnetii*, *B. henselae*, *B. bacilliformis*, *B. quintana*, *A. phagocytophilum*, *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. africae*, *R. conorii* subsp. *Conorii*, *R. felis*, et *R. typhi*.

Pour chaque échantillon clinique positif, les médecins du CNR prennent contact avec le laboratoire et/ou le clinicien ayant prescrit l'examen pour obtenir des informations épidémiocliniques.

B. Western blot

Pour confirmer le diagnostic de rickettsiose ou d'endocardite à *Bartonella*, le Western blot peut être utilisé et peut permettre soit directement soit après adsorption croisée de préciser l'espèce en cause. Les antigènes sont identiques à ceux utilisés en sérologie par IFI.

2. 3. Activité de Détection Moléculaire

La détection moléculaire des bactéries surveillées par le CNR est un outil de tout premier plan, notamment lorsque des arthropodes, biopsies cutanées, ou échantillons de sang EDTA ont été prélevés et nous ont été adressés. Tous les tests de PCR actuellement utilisés ont été développés au sein du CNR, validés et ont fait l'objet de publications scientifiques internationales. Les gènes ciblés et amorces utilisées sont répertoriés dans le Tableau 1. L'ADN des échantillons est extrait à l'aide de robots EZ1 (QIAGEN, Hilden, Allemagne) et les réactions de PCR réalisées à l'aide de thermocycleurs CFX (BioRad, Berkeley, CA, USA). Pour chaque réaction de PCR, un témoin positif et un témoin négatif sont utilisés. Un circuit de type « marche en avant » dédié (préparation des mix réactionnels → ajout ADN) est utilisé pour limiter les risques de contamination. Depuis 2012, le CNR promeut détection moléculaire par écouvillonnage, qui évite la biopsie cutanée qui était auparavant l'échantillon de référence pour le diagnostic moléculaire et par culture des rickettsioses.

Tableau 1 : Liste des gènes et amorces utilisés par le CNR pour la détection moléculaire des différents microorganismes surveillés

ORGANISMES CIBLES	GENES CIBLES	NOM	SEQUENCES	TAILLE	DILUTION	AMPLICON
BARTONELLA						
Toutes Bartonella	ITS	Barto ITS3 F	GATGCCGGGGAAGGTTTTC	19		104 pdb
		Barto ITS3 R	GCCTGGGAGGACTTGAACCT	20		
		Barto ITS3 P	6FAM- GCGCGCGCTTGATAAGCGTG	20		
	ITS	Barto ITS2 F2	GGGGCCGTAGCTCAGCTG	18		171 pdb
		Barto ITS2 R2	TGAATATATCTTCTTCCACAATTTC	26		
		Barto ITS2 P	6FAM- CGATCCCGTCCGGCTCCACCA	21		
Bartonella henselae	PAP	PAP 246F	TATGCCTTATGTTGCTGGTGGT	22		151 pdb
		PAP 396R	ACCACCCCAAGAGTGAAAC	20		
	1ère intention	PAP246/396_MBP	6FAM- CAAGCAGCAGATGATGCAGAAATCGC	26		
		PAP 246F/396R ancienne son	6FAM- CTGTGAGTTCTACTAAGGTAA			
	GROEL	GROEL 493F	GGTGTGGACAAAAGAGCGA	20		151 pdb
2ème intention		GROEL 643R	TTGCTCCACCAACACGGATA	20		
		GROEL P 493F/643R	6FAM- AATTGCAAGAAAGACTTGCT	20		
Bartonella quintana	yopP	B qui 11580F	TAAACCTCGGGGAAGCAGA	20		134 pdb
	1ère intention	B qui 11580R	TTTCGTCTCAACCCCATCA	20		
		B qui 11580P	6FAM- CGTTGCCGACAAGACGTCCTTGC	23		
	fabF3	B qui 05300F	GCTGGCCTTGCTCTTGATGA	20		139 pdb
		B qui 05300R	GCTACTCTGCTGCTTGGA	20		
B qui 05300P		6FAM- TGCAGCAGGTGGAGGAGAACGTG	23			
COXIELLA						
Coxiella burnetii	hypothetical p.	IS30a 3F	CGCTGACCTACAGAAATATGTCC	23		164 pdb
	1ère intention	IS30a 3R	GGGGTAAAGTAAATAATCCTTCTGG	25		
		IS30a F3-R3 P	6FAM- CATGAAGCGATTTATCAATACGTGTATGC	29		
	IS1111A confirmation	IS 1111 0706 F	CAAGAAACGTATCGCTGTGGC	21		154 pdb
		IS 1111 0706 R	CACAGAGCCACCGTATGAATC	21		
		IS1111 07-06 P	6FAM- CCGAGTTCGAAACAATGAGGGCTG	24		
EHRLICHIA						
Anaplasma phagocytophilum	polA	A_pha0001F	TTTGATTCGGGGTCGAAAAA	20		121 pdb
		1ère intention	A_pha0001R	AACGCTTCAACAGCCTCACG	20	
			A_pha0001P	6FAM- TCGCCCTAAAGCACCAGAGGATCTG	25	
	gatA	A_pha0748F	CGCACTACCCGATGCTCTG	19		129 pdb
		A_pha0748R	AGCCATGGCAAATTCATCC	20		
A_pha0748P		6FAM- TGCTTGATGATGGGAAATTGAACA	26			
orf 1395	A_pha1395F	CAGAAGAACCAGGCGATA	20		138 pdb	
	A_pha1395R	TCGACGTAGGTGAGCTGCAA	20			
	A_pha1395P	6FAM- TGACCAAAGATGCACATGGTGCACA	25			
Ehrlichia canis	taredoxin related	E_can0701F	TGAGGCCATTAAGAATTCACAA	23		113 pdb
		1ère intention	E_can0701R	TGAAGCTCTCCACTGTGGTACATTT	25	
			E_can0701P	6FAM- AGGTGAGTTTATTGGGTGCGACA	23	
	hyp. p.	E_can0503F	CAGCAAATCCAATTCGCACTTC	23		146 pdb
		E_can0503R	GAGCTTCCAATTGATGGGCTG	22		
E_can0503P		6FAM- TGTTATCTAATGCAAAAATCCCGGCA	27			
Neorickettsia sennetsu	gltA	gltA sennetsu F	GGCTACAGCTAGTTTATGGGG	21		166 pdb
		gltA sennetsu R	AGTTTTTATACACCTGTGCC	22		
		gltA sennetsu	6FAM- GCGCGTTAAAAGAAAAGAGAGAC	26		

2.4. Activité de Culture

Tous les échantillons reçus par le CNR pour culture (tout type de biopsie, arthropodes, sang hépariné, pourvu qu'ils aient été préservés à -80°C après prélèvement et envoyés en carboglace) sont transférés dans le laboratoire NSB3. Cinq techniciens sont chargés de traiter ces échantillons sous hotte NSB3 : chaque échantillon est partagé en plusieurs aliquots dont un pour la culture, un pour la détection moléculaire et un qui sera conservé à -80°C pour d'éventuelles analyses ultérieures. Toutes les cultures sont réalisées en tube bijou. Cette méthode de culture, dans laquelle un tapis de cellules cultivées sur lamelle est placé au fond du tube, met en jeu une étape de centrifugation des prélèvements pour augmenter le ratio bactéries/cellules. Les cellules les plus utilisées en première intention sont les cellules endothéliales.

2.5 Souchier de microorganismes fastidieux

L'Unité des Rickettsies, par sa spécificité de Centre National de Référence pour l'étude des rickettsies, a acquis une expérience unique dans la culture des bactéries de culture difficile, qu'elles soient intra- ou extra-cellulaires. La collection unique de souches bactériennes constituée par l'Unité des Rickettsies est riche de plus de mille souches de bactéries intra-cellulaires. Un technicien, Mr Jérôme Terras, est directement responsable de l'entretien du souchier, sous la responsabilité du Pr Fournier. Les moyens auxquels le laboratoire a accès pour cultiver les souches bactériennes sont les deux laboratoires de niveau de sécurité biologique 3. Le Pr Fournier est habilité à la détention des souches bactériennes faisant l'objet d'une surveillance particulière (MOT) : *R. prowazekii* et *R. rickettsii* sous la référence ADE-021722012-9).

A. Protocoles de conservation

Les souches cultivées en laboratoire NSB3 sont conservées selon trois modes de conservation : congélateurs à -80°C, azote liquide et lyophilisation dans des locaux sécurisés (froid et accès). Ces souches sont organisées au sein de la Collection de souches de l'Unité des Rickettsies (CSUR). Ces souches sont référencées dans un ordinateur lui aussi sécurisé dans lequel sont entrés aussi les références de typage de ces souches quand elles existent.

B. La collection CSUR

L'Unité des Rickettsies, Centre National de Référence des Rickettsioses a décrit 10 des 26 espèces validées de *Rickettsia*. La description de nouvelles espèces de *Rickettsia* obéit aux nouvelles règles développées par le Comité International de Systématique des Procaryotes pour l'ensemble des bactéries, dont la mise à disposition des souches-type pour les scientifiques qui souhaitent les étudier. Les souches du CNR sont déposées dans la Collection de Souches de l'Unité des Rickettsies (CSUR, WDCM 875) dont le curateur est le Pr Fournier (<http://www.mediterranee-infection.com/article.php?laref=14&titre=collection-de-souches>). La CSUR est l'une des rares collections dans le monde avec l'American Type Culture Collection qui accepte les bactéries intracellulaires strictes. Actuellement, **218 souches de *Rickettsia*, 310 souches de *Coxiella burnetii* et 664 souches de *Bartonella*** sont déposées dans la CSUR (Tableau 2), faisant de cette collection **la plus grande collection mondiale de bactéries intracellulaires strictes ou facultatives**. En effet, le total des souches de *Bartonella* et *Rickettsia* des collections ATCC, CIP, CCUG et DSMZ cumulées n'atteint pas 100 souches. Conformément à la législation sur la circulation des souches bactériennes, la CSUR ne distribue pas les souches de *Coxiella burnetii*, *Rickettsia prowazekii*, et *Rickettsia rickettsii*. La liste exhaustive des souches de *Rickettsia*, *Bartonella* et *Coxiella* disponibles à la CSUR est disponible online (<http://www.mediterranee-infection.com/article.php?laref=349&titre=centre-national-de-reference-des-rickettsia-coxiella-et-bartonella>). Les souches peuvent être déposées ou demandées à la CSUR à l'aide du formulaire ci-dessous.

Tableau 2. Nombre de souches par espèce dans la collection de souches

Genres	Espèces	Nombre de souches
<u><i>Bartonella</i></u>	<i>alsatica</i>	1
	<i>australis</i>	10
	<i>bacilliformis</i>	1
	<i>birtlesii</i>	5
	<i>bovis</i>	34
	<i>capreoli</i>	1
	<i>chomelii</i>	1
	<i>clarridgeiae</i>	27
	<i>coopersplainensis</i>	1
	<i>doshiae</i>	1
	<i>elizabethae</i>	1
	<i>florentiae</i>	2
	<i>grahamii</i>	1
	<i>henselae</i>	92
	<i>koehlerae</i>	2
	<i>massiliensis</i>	2
	<i>phoceensis</i>	1
	<i>queenslandensis</i>	5
	<i>quintana</i>	431
	<i>rattaustraliani</i>	5
	<i>rattimassiliensis</i>	9
	<i>senegalensis</i>	3
	<i>schoenbuchensis</i>	17
	<i>taylorii</i>	1
	<i>tribocorum</i>	23
	<i>vinsonii</i>	3
	<i>weissi</i>	4
<u><i>Coxiella</i></u>	<i>burnetii</i>	310
<u><i>Rickettsia</i></u>	<i>aeschlimannii</i>	7
	<i>africae</i>	34
	<i>akari</i>	1
	<i>amblyommatis</i>	1
	<i>argasii</i>	1
	<i>asiatica</i>	5
	<i>australis</i>	1
	<i>bellii</i>	1
	<i>canadensis</i>	1
	<i>conorii</i>	87
	<i>felis</i>	3
	<i>gravesii</i>	1
	<i>heilongjiangensis</i>	2
	<i>helvetica</i>	4
	<i>honei</i>	2
	<i>japonica</i>	3
	<i>massiliae</i>	7
	<i>montanensis</i>	1
	<i>parkeri</i>	2
	<i>raoultii</i>	7
	<i>rhipicephali</i>	1
	<i>sibirica</i>	15
	<i>slovaca</i>	23
<i>sp.</i>	2	
<i>tamurae</i>	1	
<i>typhi</i>	1	
<u><i>Orientia</i></u>	<i>tsutsugamushi</i>	4

CSUR
Collection de Souches de l'Unité des Rickettsies
WDCM 875
Professeur Pierre-Edouard FOURNIER
Cutateur
URMITE
 French reference center
 Diagnosis and study of rickettsioses, Q fever and bartonellosis

STRAIN ORDER FORM

CSUR Account Number: *
 Organization: *
 First Name: *
 Last Name: *
 Phone: * (example: 33 (0)491 385517)
 Fax:
 E-mail: *
 Street: *
 City: *
 Post Code: * (required)
 Country:

	CSUR ref	Product Description	Unit Price in EUR	Quantity	Price in EUR
ex	R1	Rickettsia tamurae strain AT-1	750.00	<input type="text" value="1"/>	750.00
1			750.00	<input type="text" value="1"/>	
2			750.00	<input type="text" value="1"/>	
Total:					

Please fax (33 (0)413 732 402) or email the order form (pierre-edouard.fournier@univ-amu.fr)

Institut Hospitalo-Universitaire Méditerranée-Infection – 19-21, bvd Jean MOULIN
13005 MARSEILLE -FRANCE
 Tél :33 (0)413 732 401, Telefax : 33 (0)413 732 402, e-mail: pierre-edouard.fournier@univ-amu.fr



STRAIN DEPOSIT FORM

To be completed by the strain's contributor or contributor's authorized representative. Please print or type.

Agent: _____ Strain: _____
 Taxonomic classification : _____

1. Background information

- a. This strain was isolated by: _____
- b. From (host): _____ Organ: _____
 Tissue: _____ Fluid: _____
- Was this strain obtained from human subjects? Yes No
- c. Clinical disease or symptoms exhibited by host: _____
- d. Reference. *Please enclose a copy of relevant references.*
- e. Officially recognized as reference strain by (committee): _____
- f. List any special handling requirements: _____
- g. Recommended storage conditions (temp, etc.): _____
- h. Recommended method for rapid identification (*i.e.*, antibody and source): _____
- i. Host range: _____ Incubation: _____
 Circle host of choice for *in vitro* propagation _____ days/temp
- j. Effect (type of CPE, etc.): _____
- k. Special characteristics (physical properties, stability, cross reactions, hemolysin production, presence or absence of mycoplasma, sequence information, etc.): _____
- l. If you did not isolate this strain, indicate from whom you received it: _____

2. Reason for deposit (new taxon, attenuated strain, utility as a vector, etc.): _____

3. Properties of material

- a. Propagated in (host cells, animal or tissue): _____
- b. Medium used, etc.: _____
- c. Titer (list as units/volume, *i.e.*, PFU/ml): _____ Titer date: _____
- d. Titer conditions (host system, route of inoculum, days to final reading): _____
- e. Final preparation (proportion of suspending medium, cryoprotectants, antibiotics, etc.): _____
- f. Passage level (full passage history of material deposited): _____

4. Safety information

a. Is the strain hazardous for humans? _____ Animals? _____ Plants? _____

If yes, what is the recommended Biosafety level for working with this culture? (refer online to www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmbl4toc.htm): _____

b. Does this agent require any special permits? Yes No If yes, please specify? _____

c. List any routine vaccinations or surveillance provided to investigators handling this agent: _____

5. Legal status of deposit: check either **a** or **b** to determine the conditions under which the culture is deposited at CSUR (**either a or b MUST BE CHECKED**):

a) This is a bailment deposit. The contributor designated below understands that this material is for deposit in the CSUR general collection. It will be examined, and if accepted by the CSUR, batches will be made and distributed to the scientific community for a fee to cover expenses.

b) This is a deed-of gift deposit. The contributor designated below hereby gives CSUR ownership of the transferred quantity of material, with the authority to reproduce, use, give, sell, or otherwise transfer the material to third parties who also may reproduce, use, and further transfer the material, as permitted by CSUR.

Gift on behalf of the following donor: _____

6. CSUR may, in accordance with its then current procedures and resources, authenticate (if appropriate) and preserve the material.

7. This form states the entire agreement between the parties regarding the material. The undersigned are authorized to execute this agreement.

Contributor

Duly Authorized for Contributor's Institution
(if required by Contributor's Institution)

Signature Date

Signature Date

Printed Name and Title

Printed Name and Title

Institution

Institution

Mailing Address

Mailing Address

Telephone

Telephone

Fax

Fax

Email

Email

Please fax (33 (0)491 38 77 72) or email the order form (pierre-edouard.fournier@univ-amu.fr)

2.6 Réseaux de partenaires

Le CNR a de nombreux partenaires aussi bien en France qu'à l'étranger. La liste des partenariats et correspondants étrangers figure plus loin dans ce rapport. Sur le plan national, il n'existe pas de partenariat institutionnalisé mais le CNR collabore de façon durable avec des laboratoires répartis sur l'ensemble du territoire. Le CNR fournit notamment des antigènes et des sérums contrôlés positifs aux Laboratoires des CHU de Bordeaux (Pr. BEBEAR), Paris (Pr. MAINARDI), Strasbourg (Pr. JAULHAC), Tours (Pr. GOUDEAU) et du CHG d'Aix en Provence (Dr. CHARDON) ainsi qu'à l'étranger (Russie, Slovaquie, Espagne, Suisse, Taiwan...).

Le CNR collabore avec l'ECDC au travers de la fourniture annuelle des données épidémiologiques sur la fièvre Q.

Centre de référence	Année de création
Centre de Référence pour l'étude et le diagnostic des Rickettsioses, Bartonelloses, Fièvre Q et maladies transmises par les tiques	1985
Centre de référence BIOTOX pour la zone de défense Sud	2001
Centre collaborateur Orphanet et Centre de Référence de la Maladie de Whipple	2001
Centre de Ressources et de Compétences pour la mucoviscidose	2006
Centre Collaborateur OMS de référence et de recherche pour les rickettsioses	1998 - 2002
Centre Collaborateur OMS de référence et de recherche pour les rickettsioses et autres bactéries transmises par les arthropodes	2002-2014
Collection de Souches de l'Unité des Rickettsies	2004

2.7 Coopérations institutionnelles

Le Groupe Européen d'Etudes sur Rickettsia, Ehrlichia et Coxiella (ESCAR), devenu en 2016 ESCCAR (European Society for Chlamydioses, Coxiellosis, Anaplasmosis, Rickettsioses and other arthropod-borne intracellular bacteria) réunit les trois Centres Collaborateurs OMS Européens (Marseille, Moscou, Bratislava). Le Professeur Pierre-Edouard FOURNIER est président élu de l'ESCAR depuis 2016 et organisera du 19 au 21 juin 2017 à Marseille le congrès international trisannuel de l'ESCCAR, auquel sera associée l'American society for Rickettsiology.

Centres collaborateurs OMS sur les rickettsioses

- Gamaleya Institute (Russie)
- Slovak Academy of Science (Slovaquie)
- Center for Diseases Controls (Atlanta – USA)
- Center for Tropical Diseases (Galveston, USA)
- Center for Tropical Diseases (Heraklion, Grèce)

Collaborations internationales autres

De nombreux échanges de chercheurs ont été réalisés. Des coopérations spécifiques dans le domaine du diagnostic des nouvelles maladies infectieuses ont été conduites avec les institutions suivantes :

- Shangai II
- Université de Pékin
- SPS (Japon)
- OMSK Scientific Research Institute of Natural Foci Infections (Omsk, Russie)
- Gamalaya Institute (Moscou, Russie)
- Hôpital de Tunis (Tunisie)
- Université de Sfax (Tunisie)
- Université de Sousse (Tunisie)
- Hôpital de Batna (Algérie)
- Hôpital de Bamako (Mali)
- Hôpital Principal de Dakar (Sénégal)
- Welcome trust d'Oxford (Grande-Bretagne, Thaïlande) et Hôpital de Ventiane (Laos)
- Université de Lausanne (Suisse)
- Université de Palerme (Italie)
- Hôpital de Tamilnadu (Inde)
- Hôpital de Bangkok (Thaïlande)
- Institut Pasteur Alger (Algérie)
- Institut Pasteur Casablanca (Maroc)
- Université d'Edirne (Turquie)
- Institut Vétérinaire de Palmerston (Nouvelle-Zelande)
- Hôpital d'Oslo (Norvège)

Programmes internationaux

- Réseau sur les maladies transmises par les vecteurs VBORNET
- Le CNR collabore activement avec les CNR des rickettsioses suivants :
- Belgique : Dr M. Hing - Bruxelles.
- Danemark : B. Jensen - Copenhague
- Suède : S. Vene, G. Grandi– Stockholm
- Suisse : A. Dumoulin – Sion
- USA : C. Paddock – CDC, Atlanta, GA

2.8 Collaborations avec les pays étrangers

Liste des collaborateurs étrangers du CNR

Pays	Correspondant	Ville
Europe		
Belgique	Dr Monny Hing	Bruxelles

Espagne	Pr Jose Oteo	Logrono
Grande Bretagne	Pr Richard Birtles	Manchester
Grèce	Pr Yannis Tselentis	Heraklion
	Pr Achilleas Gikas	Heraklion
Italie	Dr Laura Franzin	Turin
Norvège	Pr Mogens Jensenius	Oslo
Portugal	Dr Anna Santos	Lisbonne
Russie	Pr Stanislav Shpynov	Moscou, Omsk
Slovaquie	Dr Zuzana Sekeyova	Bratislava
Suisse	Pr Gilbert Greub	Lausanne
	Dr Alexis Dumoulin	Sion

Maghreb

Algérie	Dr Idir Bitam	Alger
	Dr Kheira Mokrani	Batna
Maroc	Dr Nadia Boudebouch	Casablanca
Tunisie	Pr Amel Letaief	Sousse
	Dr Abir Znazen	Sfax

Asie

Japon	Pr Hisachi Inokuma	Obihiro
Laos	Pr Paul Newton	Vientiane
Thaïlande	Dr Yupin Supputamongkol	Bangkok
	Pr George Watt	Bangkok

Océanie

Australie	Pr Stephen Graves	Victoria
Polynésie française	Dr Didier Musso	Papeete

Amériques

Canada	Pr Thomas J. Marrie	Edmonton
Saint Kitts/Nevis	Pr Patrick Kelly	Basseterre
USA	Dr Christopher Paddock	Atlanta
	Dr Gregory Dasch	Atlanta

3 – ACTIVITÉS DE SURVEILLANCE

3. ACTIVITES DE SURVEILLANCE

En 2016, les données concernant les microorganismes et les infections dépendant du CNR ont été collectées de façon continue et régulièrement analysées, ce qui permet la détection de l'émergence de nouveaux phénomènes comme des nouveaux microorganismes ou des épidémies.

3.1. Réseau de partenaires

3.1.1 Collaborations avec l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

Le CNR des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* est partenaire du laboratoire d'études et de recherches sur la pathologie des petits ruminants et des abeilles, dépendant de l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Ce laboratoire, situé à Sophia-Antipolis, est laboratoire national de référence (LNR) pour la fièvre Q en santé animale depuis décembre 2009. A ce titre et dans le cadre d'un groupe de travail avec la direction générale de l'alimentation (DGAL), il participe à la mise en place un réseau pilote des laboratoires départementaux d'analyse chargés du diagnostic de cette pathologie.

Il fournit un appui scientifique et technique aux services vétérinaires de l'Etat : analyse de prélèvements en seconde intention, contrôle de vaccins, fourniture de réactifs de référence, suivi de la qualité des analyses des laboratoires de terrain (au travers d'essais inter-laboratoires notamment), expertise d'outils de diagnostic du commerce et mène des recherches portant sur l'harmonisation des outils pour le diagnostic et l'épidémiologie. Il s'est investi dans plusieurs études sur la vaccination en tant qu'outil de la gestion en élevage.

Le CNR et le LNR ont débuté en 2016 une collaboration scientifique sur l'étude génomique comparée des souches humaines et animales de *Coxiella burnetii*, matérialisée par l'embauche d'un étudiant post-doctorant commun.

3.1.2. Collaborations avec l'ECDC

Le CNR des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* est partenaire du **réseau EuroTravNet** depuis 2009 (www.eurotravnet.fr). EuroTravNet est un réseau de cliniciens européens spécialistes en médecine des voyages et en maladies tropicales. Ce réseau est le référent du **CDC Européen** (www.ecdc.europa.eu), qui le finance depuis 2009. Le Dr Gautret dirige le centre coordinateur d'EuroTravNet. Le but d'EuroTravNet est d'aider l'ECDC dans ses missions de détection des maladies infectieuses importées en Europe, et dans l'apport d'une expertise sur les maladies transmissibles. EuroTravNet a récemment proposé à tous les membres du réseau (40 centres dans 20 pays en Europe) une surveillance des rickettsioses européennes avec la proposition d'analyser les échantillons au CNR de Marseille. La base du réseau est constituée par les sites européens du **réseau Geosentinel** (www.geosentinel.org).

3.1.3. European Society for Coxiellosis, Chlamydioses, Anaplasmosis and Rickettsioses (ESCCAR)

Le CNR collabore étroitement avec l'ESCCAR depuis sa création par le Pr Raoult, 1^{er} Président de l'ESCAR. Actuellement, le Pr Fournier est président de l'ESCCAR.

3.2. Facturation des analyses réalisées par le CNR des Rickettsies, Coxiella et Bartonella

Le CNR réalise des analyses par « syndrome », en testant pour un échantillon clinique donné les agents microbiens potentiellement en cause compte tenu des critères épidémiocliniques présentés par le patient. Cependant, le CNR ne facture, que les analyses spécifiées par les prescripteurs, quel que soit le nombre d'exams réalisés, selon la nomenclature ci-dessous.

3.2.1 Sérologies

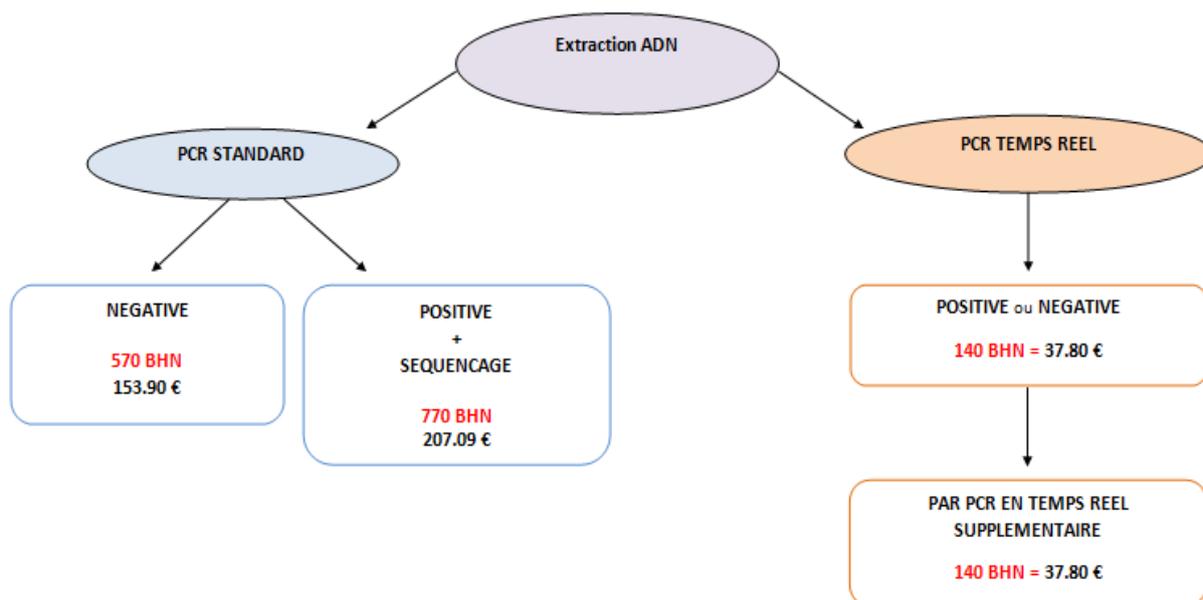
FIEVRE Q			
DEPISTAGE	COTATIONS	CODES NOMENCLATURE	TARIFS €
NEGATIF	B 40	1316	10.80 €
POSITIF Phase 1	B 130 (B40 + B 90)	1316 + 3248	35.10 €
POSITIF Phase 2	B 220 (B 40 + B 180)	1316 + 3249	59.40 €

RICKETTSIES			
DEPISTAGE	COTATIONS	CODES NOMENCLATURE	TARIFS €
<i>Rickettsia conorii et typhi (Elles sont facturées ensemble, une seule cotation pour les deux)</i>			
NEGATIF	B 40	1317	10.80 €
POSITIF	B 130 (B40 + B 90)	1317 + 3318	35.10 €
<i>Autres espèces de rickettsies : Elles sont facturées séparément. (slovaca, felis, raoultii...)</i>			
NEGATIF OU POSITIF	BHN 40	G238	10.80 €
<i>Exception : Rickettsia africae</i>			
NEGATIF OU POSITIF	BHN 60	G237	10.80 €

BARTONELLA			
DEPISTAGE	COTATIONS	CODES NOMENCLATURE	TARIFS €
<i>Bartonella quintana et henselae (Elles sont facturées ensemble, une seule cotation pour les deux)</i>			
NEGATIF	B 40	1331	10.80 €

POSITIF	B 130 (B40 + B 90)	1331+ 3252	35.10 €
<i>Autres espèces de Bartonella</i>			
NEGATIF OU POSITIF	BHN 40	G238	10.80 €

3.2.2 Détection moléculaire



3.3. Surveillance des rickettsioses, de la fièvre Q et des bartonelloses

Origine des prélèvements

Le CNR reçoit et analyse des échantillons cliniques en provenance des centres hospitaliers régionaux et généraux, des Hôpitaux d'instruction des armées, des hôpitaux et cliniques privés, de l'institut Pasteur (Paris, Lille, Cayenne) et de nombreux laboratoires d'analyses de biologie médicale et/ou de microbiologie en France et à l'étranger.

3.3.1 Diagnostic de la fièvre Q

En 2016, parmi les 13890 échantillons de serum provenant de 11309 patients ont été testés au CNR pour présence d'anticorps contre *C. burnetii* contre 14872 prélèvements (-7%) de 11455 patients (+1.3%) en 2015. De plus, nous avons reçu 6631 échantillons divers (sang, biopsies ganglionnaires, valves cardiaques, biopsies vasculaires, LCR notamment) de 4364 patients (contre 6659 échantillons de 4319 patients en 2015, -0.4%) pour diagnostic moléculaire et culture.

A. Diagnostic sérologique

Au total, 980 échantillons de sérum (483 patients) se sont révélés positifs en IgG ($\geq 1 :100$) et/ou IgM ($\geq 1 :50$). **Cent soixante-dix-sept** nouveaux cas de fièvre Q aiguë ont été diagnostiqués en 2016 contre **218** (-19%) en 2015 et **93** nouveaux cas de fièvre Q chronique contre **51** (+82%) en 2015. Enfin, **213** patients présentaient un profil de fièvre Q ancienne ou chronique diagnostiquée avant 2015 et en cours de traitement.

B. Diagnostic par biologie moléculaire

Trois-cent-quarante-et-un prélèvements (5.1%) provenant de **165** patients ont fait l'objet d'une détection de *C. burnetii* positive par détection moléculaire.

C. Diagnostic par culture

En outre, 15 souches de *Coxiella burnetii* (13 patients) ont été isolées en culture cellulaire de biopsies de valves cardiaques (7), d'anévrismes de l'aorte (4), de sang (2) et de biopsies osseuse (1) et hépatique (1) (cf Tableau sur le site Web du CNR).

C. Fièvres Q aiguës

Le nombre de patients atteints de fièvre Q aiguë en 2016 et pour lesquels le CNR a reçu des prélèvements était de **177** ce qui représente une incidence de **0,27** pour 100.000 personnes en France (métropole et départements d'Outre Mer), en baisse par rapport à 2015 (0.33%). Bien sur, ces chiffres d'incidence sous-estiment l'incidence de la maladie en France puisque elle n'est pas à déclaration obligatoire. Aucune épidémie de fièvre Q n'a été décelée en 2016 en France. Parmi les 177 patients atteints de fièvre Q aiguë, **130 (73.4%)** étaient de sexe masculin (sex ratio M/F 2.76). L'âge moyen des patients atteints de fièvre Q était de **52 +/- 18** ans. Le plus jeune patient atteint de fièvre Q aiguë avait 6 ans et le plus âgé 92 ans. **Soixante-et-un** des 177 patients atteints de fièvre Q présentaient une hépatite fébrile (34.5%), **51** une pneumonie (28.8%), **32** une fièvre isolée (18%, dont 7 avaient été porteurs de valvulopathie), **7** à la fois une hépatite et une pneumonie (3.9%), **7** une infection vasculaire aiguë (3.9%), **5** une infection ostéo-articulaire (2,8%), **4** une endocardite aiguë (2.2%), **3** une cholécystite (1.7%), **3** étaient des infections aiguës contractées en cours de grossesse (1.7%), et **1** cas chaque de myocardite, de péricardite, d'érythème noueux et de fièvre avec polyadénopathies (Tableau 3).

Tableau 3 : Données démographiques des patients atteints de fièvre Q aigüe

Forme clinique	Nombre	Age moyen +/- écart-type	Sex ratio M/F
Hépatite	61	51 +/- 15	3.7
Pneumonie	51	53 +/- 15	2.2
Fièvre isolée	32	53+/-20	3.6
Hépatite + pneumonie	7	45 +/- 17	7
Infection vasculaire aigüe	7	69+/-17	6
Infection Infection ostéo-articulaire aigüe	5	47+/-38	0.7
Endocardite aigüe	4	52+/-13	4
Cholécystite	3	59+/-8	3
Infection en cours de grossesse	3	29+/-1	

La répartition temporelle des cas métropolitains de fièvre Q aigüe en fonction du mois du diagnostic pour 2016 montre deux pics en **janvier-février** et en **juin-juillet** (Figure 1). Même si cette répartition était plus marquée au cours de années 2013 à 2015, elle est retrouvée ne 2016. La répartition géographique des cas métropolitains de fièvre Q aigüe en 2016 est présentée dans la Figure 2. La majorité des nouveaux cas (92,1%) a été diagnostiquée dans la région Provence-Alpes-Côte d'Azur (40.6%), suivie par les régions Auvergne-Rhône-Alpes (16.4%), Nouvelle Aquitaine (14.8%), Occitanie (10.9%) et Centre-Val de Loire (9.4%). Cinquante-quatre des patients ayant contracté la fièvre Q en métropole présentaient une **hépatite** (41.2%), 26 une fièvre isolée (19.8%), 20 une forme pulmonaire (15,3%), 7 des infections vasculaires aigües (5.3%), 5 une hépatite et une pneumonie (3.8%), 4 une cholécystite (3.0%), 3 une infection ostéo-articulaire (2,3%), 3 une endocardite aigüe (2.3%), 3 étaient des femmes enceintes (2.3%), 2 présentaient des polyadénopathies (1.5%) et un patient chaque présentait une myocardite, une péricardite et un érythème noueux.

Outre-mer, la Guyane est la région française où la fièvre Q a la plus forte incidence, avec **43** nouveaux cas de fièvre Q aigüe diagnostiqués en 2016, soit une incidence pour 100.000 habitants de 17,2, identique à 2015 qui marquait une réascension par rapport à trois années consécutives de baisse (17,8 en 2012, 16,8 en 2013, 13,2 en 2014). La répartition saisonnière des cas montre deux pics, en **février-avril** et en **septembre-octobre** (Figure 3). Les données cliniques 2016 confirment que la fièvre Q en Guyane diffère par sa présentation clinique de la métropole, avec une **majorité de pneumonies** (28 patients, 65.1%) et moins d'hépatites (6 patients, 13,9%). Cette différence est statistiquement significative ($p < 10^{-2}$). Les autres cas diagnostiqués étaient des fièvres isolées dans 7 cas (16.3%) et des hépatites associées à des pneumonies dans 2 cas (4.6%).

Enfin, le CNR a diagnostiqué 2 cas de fièvre Q aigüe en Israël et 2 en Italie.

Figure 1. Répartition annuelle des cas de fièvre Q aiguë diagnostiqués par le CNR en 2016 en France métropolitaine

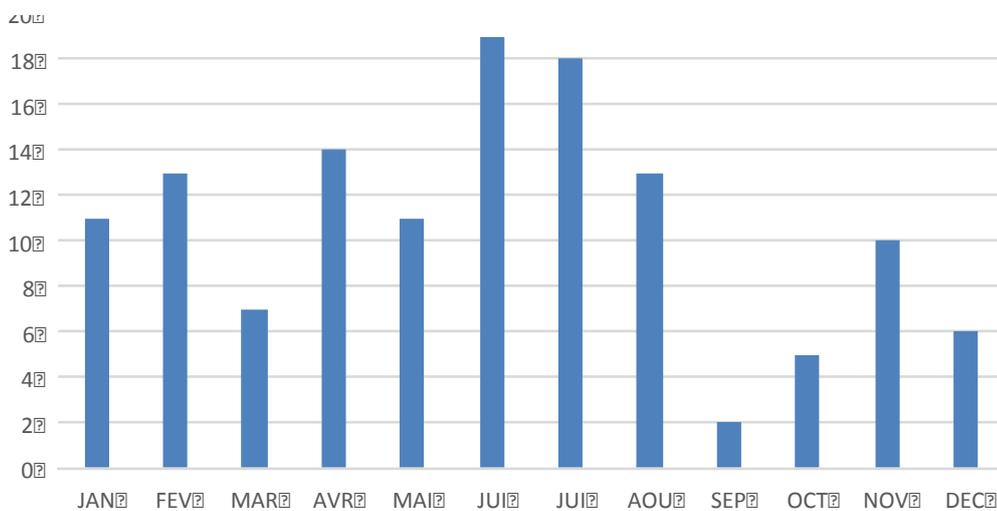


Figure 2. Répartition géographique des cas métropolitains de fièvre Q aiguë diagnostiqués par le CNR en France métropolitaine en 2016

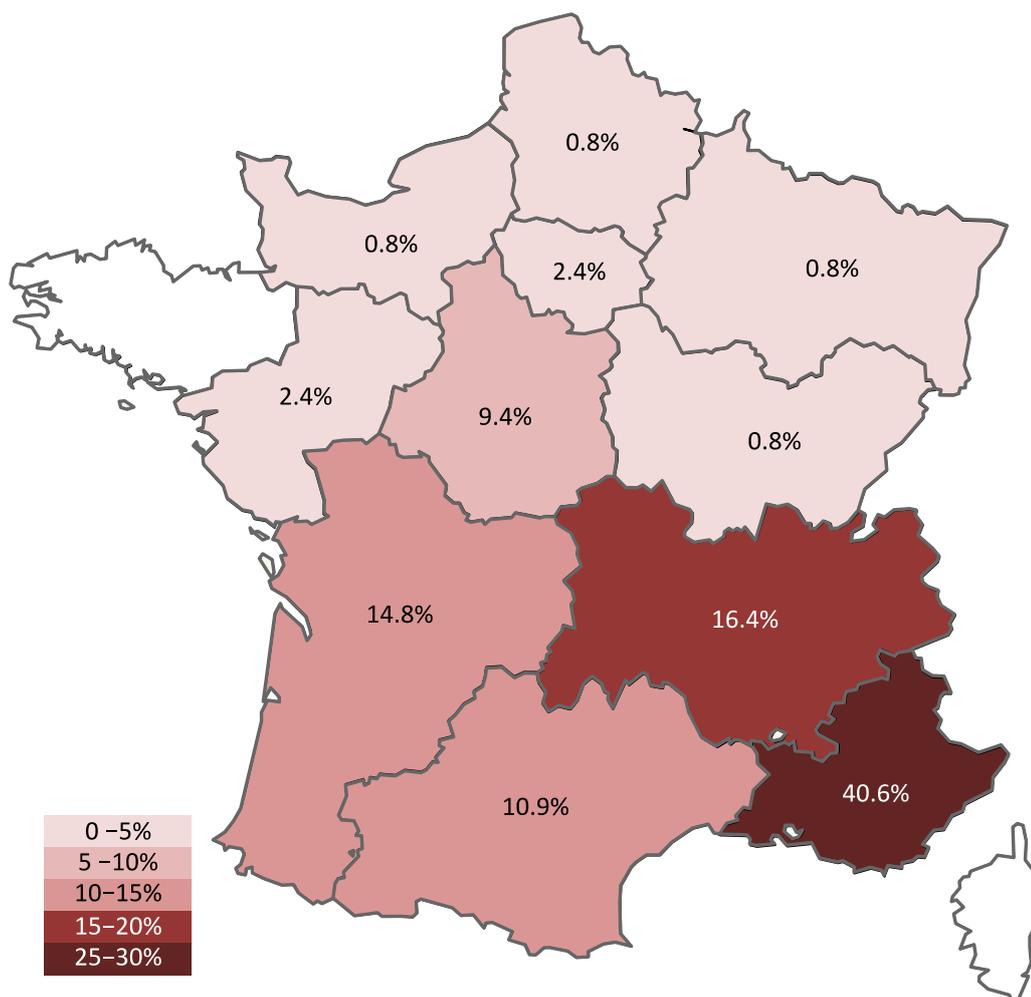
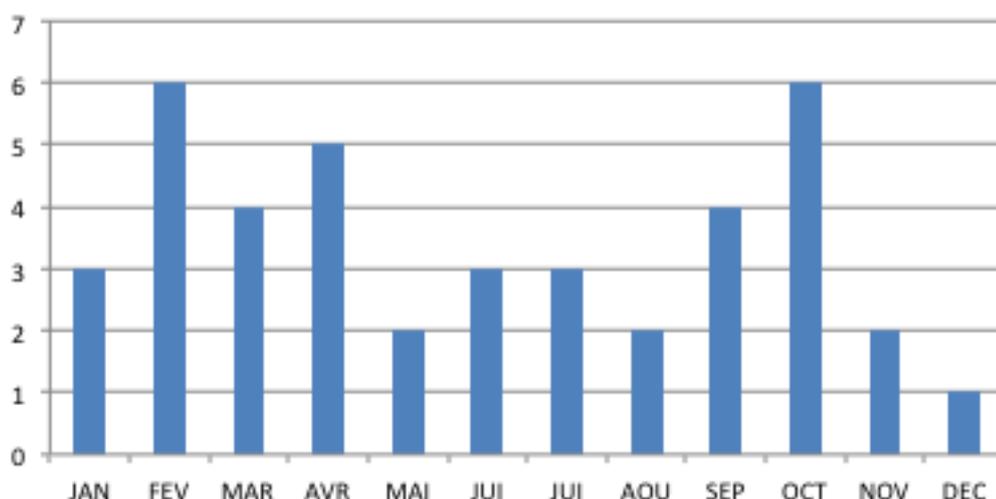


Figure 3. Répartition annuelle des cas de fièvre Q aiguë diagnostiqués par le CNR en 2016 en Guyane française



D. Formes focales d'infections à *C. burnetii*

Quatre-vingt-treize nouveaux cas d'infection focale à *C. burnetii* (fièvre Q chronique) ont été diagnostiqués par le CNR en 2016 contre **51** en 2015 (+82%). Parmi ces patients, le sex ratio H/F était de 5.2 (78/15). L'âge moyen de l'ensemble des patients était de 64 +/- 20 ans. Les infections focales à *C. burnetii* se répartissaient selon les formes suivantes : **endocardites** (N = 72, 77,4%) et **infections vasculaires** (N = 13, 14%). Les patients atteints d'infections vasculaires étaient tous de sexe masculin et étaient plus âgés que ceux présentant une endocardite (65 +/- 9 ans vs 67.2 +/- 8.8 ans). Concernant l'origine des patients présentant une forme chronique de fièvre Q, la région Occitanie (14 endocardites et 1 infection ostéo-articulaire chronique), est première, suivie de PACA (9 endocardites, 4 infections vasculaires et un patient ayant à la fois une endocardite et une infection vasculaire), Auvergne-Rhône-Alpes (10 endocardite et 1 infection vasculaire) et Nouvelle Aquitaine (6 endocardites et 2 infections vasculaires). En dehors de la France métropolitaine, 5 endocardites ont été diagnostiquées chez des patients de Guyane française, 4 endocardites et une infection ostéo-articulaire chronique en Israël, 2 en Australie, 1 endocardite et une infection vasculaire en Belgique, 2 en Grande-Bretagne, 1 en Autriche, 1 à la Réunion et 1 en Italie. **Aucune saisonnalité** n'a été notée en ce qui concerne le mois de diagnostic des nouveaux cas de fièvre Q chronique en France métropolitaine.

E. Suivi de patients, sérologies séquellaires

Des prélèvements ont été reçus pour le suivi de **67** patients ayant développé une fièvre Q aiguë, et pour **135** patients ayant eu une fièvre Q focale dans les années précédentes. En outre, **11** patients présentaient une sérologie séquellaire.

3.3.2 Diagnostic des Rickettsioses

En 2016, 62 cas de rickettsioses ont été diagnostiqués au CNR contre 63 en 2015 (-1.6%).

A. Diagnostic sérologique

Parmi les 11309 patients testés, un diagnostic de rickettsiose a été porté chez 62 patients (Figure 7). Ces diagnostics incluent les diagnostics suivants : **16 cas de Scalp Eschar and Neck Lymph Adenopathy** (SENLAT, *R. slovaca* ou *R. raoultii*), **15 cas de fièvre boutonneuse méditerranéenne** (FBM, *R. conorii*), **12 cas d'African tick-bite fever** (ATBF, *R. africae*), **9 cas de typhus murin** (*R. typhi*), **8 cas de Lymphangitis-Associated Rickettsiosis** (LAR, *R. sibirica* subsp. *mongolitimoniae*), **1 cas d'infection à *R. massiliae*** (RM) et **1 cas de typhus des broussailles** (ST, *Orientia tsutsugamushi*). Les caractéristiques des patients infectés par type d'infection ainsi que le lieu géographique de la pique lorsqu'il était connu figurent dans le Tableau 5. La distribution temporelle des cas de rickettsioses est montrée dans la Figure 4.

B. Diagnostic par biologie moléculaire

Mille quatre cent vingt-huit prélèvements de 1026 patients ont fait l'objet d'un diagnostic par biologie moléculaire. Soixante-deux (4.3%) de ces prélèvements se sont révélés positifs et ont permis de contribuer au diagnostic de rickettsioses pour 44 des 62 patients positifs. La nature des prélèvements les plus fréquemment positifs étaient les biopsies cutanées (27 patients) et les écouvillons d'escarre (14 patients). *Rickettsia africae* (N = 10) était l'espèce de rickettsie la plus fréquemment diagnostiquée par biologie moléculaire, suivie par *R. conorii* (N = 9), *R. slovaca* (N = 9), *R. sibirica* sous-espèce *mongolitimoniae* (N = 8), *R. raoultii* (N = 4), *R. typhi* (N = 2), *R. massiliae* (N = 1) et *Orientia tsutsugamushi* (N = 1).

C. Diagnostic par culture

Deux souches de *Rickettsia conorii* ont été isolées en culture cellulaire de biopsies cutanées et une souche de *R. slovaca* a été isolée d'une tique prélevée sur un patient présentant un tableau clinique de SENLAT (cf Tableau sur le site Web du CNR).

D. Répartition des cas de rickettsioses diagnostiqués

Les cas de FBM sont survenus en majorité en été dans le sud de la France sur le **pourtour méditerranéen** (Figure 4, Tableau 4), qui est la zone d'endémie de cette rickettsiose associée à la tique brune du chien, *Rhipicephalus sanguineus*. Cependant, 5 des cas diagnostiqués ont été contractés en **Algérie** ou au **Maroc**. La totalité des cas d'ATBF ont été contractés à l'occasion de visites de parcs animaliers d'Afrique du sud où la maladie est endémique et transmise par les tiques

du genre *Amblyomma*. Deux des cas de typhus murin ont été contractés dans l'île de la Réunion en février et décembre. Les autres cas ont été contractés en Asie (Cambodge, Thaïlande, Vietnam) et au Liban ou au Tchad. Les cas de SENLAT ont été contractés dans les régions **Auvergne-Rhône-Alpes, occitanie et PACA**, majoritairement en période froide. Les cas d'infection à *R. sibirica* sous-espèce *mongolitimonae* ont été contractés dans les régions **Occitanie et PACA** entre janvier et juin.

Figure 4. Répartition mensuelle des cas de rickettsioses diagnostiqués en 2016

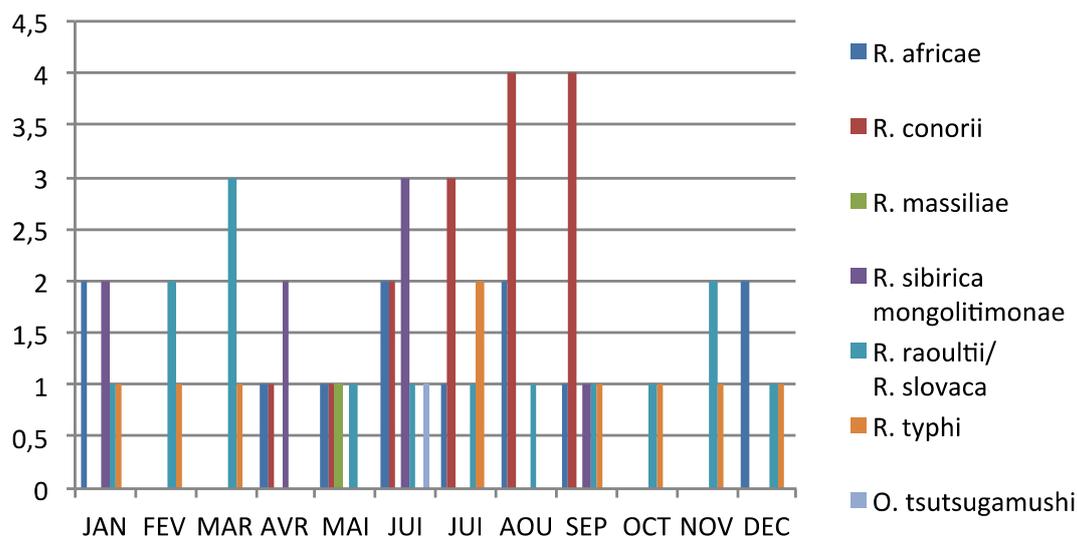


Tableau 4. Caractéristiques des patients chez qui un diagnostic de rickettsioses a été fait en 2016 (N = 62)

Infection	Sex ratio H/F	Age moyen +/- écart type	Lieu de piqure
African tick-bite fever	8/4	52 +/- 15.2	Afrique du Sud
Fièvre boutonneuse méditerranéenne	7/8	50 +/- 18.2	PACA, Algérie, Maroc
SENLAT	9/7	37 +/- 24.8	Auvergne-Rhône-Alpes, Occitanie, PACA
Lymphangitis Associated Rickettsiosis	5/3	46 +/- 27.2	Occitanie, PACA
Typhus murin	8/1	54 +/- 17	Cambodge, La Réunion, Liban, Tchad, Thaïlande, Vietnam
Typhus des broussailles	0/1	59	Thaïlande
Infection à <i>R. massiliae</i>	0/1	79	PACA

3.3.3 Diagnostic des Bartonelloses

En 2016, 158 cas d'infections à *Bartonella sp.* ont été diagnostiqués au CNR, contre 163 en 2015 (-4%). Cent trente-cinq de ces patients étaient atteints de **maladie des griffes du chat** (MGC). Un diagnostic d'**endocardite** a été porté chez 16 patients : à *B. quintana* (2 patients) ou *B. henselae* (14 patients). Un diagnostic d'**infection viscérale** à *B. henselae* a été porté chez 3 patients (2 atteintes hépatiques et une atteinte splénique). Un cas d'**angiomatose bacillaire** à *B. henselae*, un cas de **bactériémie chronique** à *B. quintana* et un cas d'abcès parotidien ont également été diagnostiqués.

A. Diagnostic sérologique

Cent neuf échantillons de sérums (pour 100 patients) se sont révélés positifs (taux d'IgG \geq 1 :100) en sérologie. Les sérums positifs étaient ceux de patients atteints de maladie des griffes du chat ou d'endocardite.

B. Diagnostic par biologie moléculaire

Cent quatre-vingts des 3022 prélèvements adressés pour diagnostic moléculaire, pour 143 patients, se sont révélés positifs.

C. Diagnostic par culture

Deux souches de *Bartonella* ont été cultivées en 2016, dont 1 souche de *B. henselae* et 1 souche de *B. quintana* humaines (cf Tableau sur le site Web du CNR).

D. Maladie des griffes du chat

Un diagnostic de maladie des griffes du chat (MGC) a été porté chez **135 patients** (Figure 5). Quatre-vingt-seize (60,7%) des patients étaient de sexe masculin. Les patients atteints de MGC étaient majoritairement des hommes (75/135) d'un âge moyen de 28 +/- 14.8 ans (contre 30 +/- 21.2 pour les femmes). Cette population était plus jeune que les autres patients atteints d'autres formes de bartonelloses (Tableau 5). La figure 5 montre la répartition des cas de MGC en fonction du mois de diagnostic avec une forte saisonnalité, déjà observée au cours des années précédentes : 71% des cas sont diagnostiqués **d'octobre à mars**. La répartition géographique des cas de MGC (Figure 6) montrait une prédominance des cas dans le ¼ sud-ouest de la France, comme en 2013, 2014 et 2015 : la région Nouvelle Aquitaine Midi-Pyrénées arrivait en tête avec 28,4% des cas suivie par la région Occitanie (21,6%). Les cas de maladie des griffes du chat en région PACA ne représentaient que 12,2% de l'ensemble des diagnostics au niveau national malgré le biais que représente la présence du CNR dans cette région.

Figure 5. Répartition temporelle des cas de maladies des griffes du chat en 2016 par mois de diagnostic

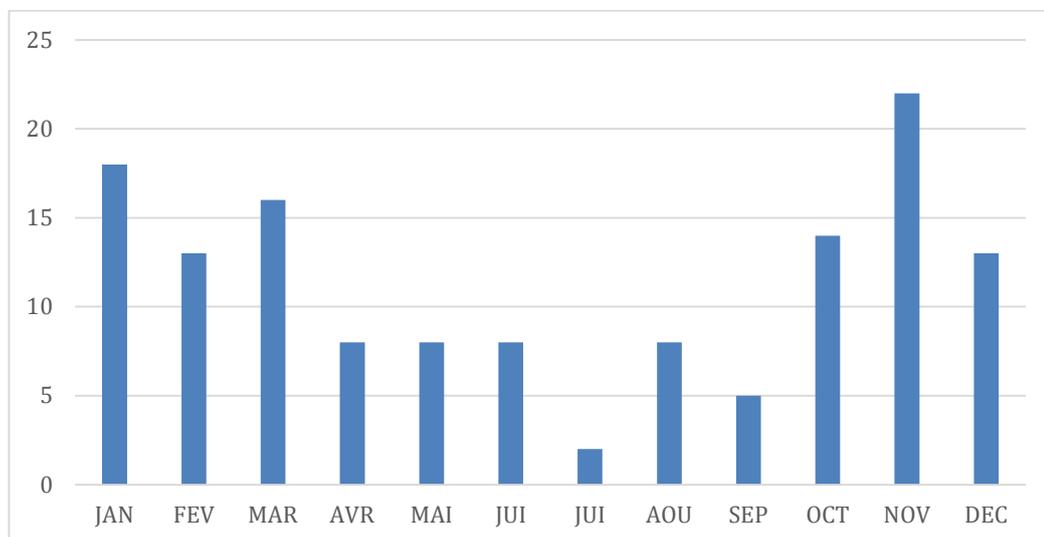
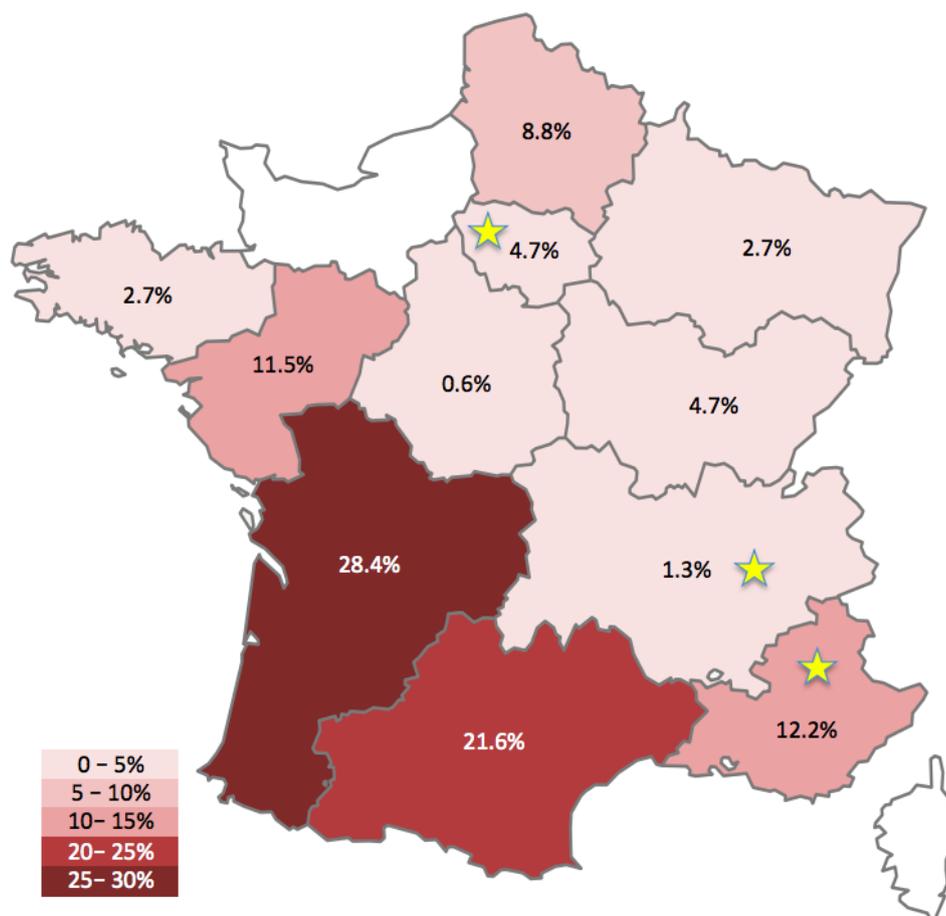


Figure 6. Répartition géographique des cas de maladie des griffes du chat diagnostiqués par le CNR en France en 2016



E. Autres bartonelloses

Le tableau 5 montre les autres diagnostics de bartonelloses établis par le CNR ainsi que les caractéristiques des patients. Un diagnostic d'endocardite à *B. henselae* a été porté chez 14 patients, d'endocardite à *B. quintana* chez 2 patients, d'abcès hépatique ou splénique à *B. henselae* chez 3 patients, de bactériémie à *B. quintana* chez 1 patient SDF, d'angiomatose bacillaire à *B. henselae* chez un patient VIH positif et de méningoencéphalite à *B. henselae*.

Tableau 5. Caractéristiques démographiques des bartonelloses autres que la maladie des griffes du chat

Infection	Nombre de cas	Sex ratio H/F	Age moyen +/- écart type	Région d'origine
Endocardite à <i>B. henselae</i>	14	11/3	58.0+/- 12,6	Auvergne-Rhône-Alpes, Bourgogne-Franche-Comté, Bretagne, Centre-Val de Loire, Hauts de France, Île de France, Nouvelle Aquitaine, Occitanie, PACA, Belgique
Endocardite à <i>B. quintana</i>	2	2/0	60 +/- 9.9	Auvergne-Rhône-Alpes, Île de France
Abcès vicéaux à <i>B. henselae</i>	3	1 / 2	52.3 +/- 13.4	Bretagne, Île de France, PACA
Abcès parotidien à <i>B. henselae</i>	1	0/1	5	Nouvelle Aquitaine
Bactériémie à <i>B. quintana</i>	1	1/0	43	PACA
Angiomatose bacillaire à <i>B. henselae</i>	1	1/0	53	Bourgogne-Franche-Comté
Méningo-encéphalite à <i>B. henselae</i>	1	1/0	43	PACA

3.3.4 Représentativité des données du CNR

Aucune des maladies surveillées par le CNR des rickettsioses, bartonelloses et de la fièvre Q n'étant à déclaration obligatoire, et plusieurs kits diagnostiques étant disponibles sur le marché pour ces pathologies, les données du CNR ne reflètent que partiellement leur épidémiologie au niveau national. En témoigne la sur-représentation des échantillons adressés par des laboratoires de la région PACA où est situé le CNR. Il en va de même pour le nombre de diagnostics,

Pour essayer d'approcher la réalité de l'épidémiologie de la fièvre Q en France, nous avons sollicité l'agence Santé Publique France en la personne du Docteur Alexandra MAILLES pour extraire et analyser les données du PMSi 2016 sur la fièvre Q. Malheureusement, cette analyse n'a pas été possible pour 2016 mais nous espérons réaliser cette analyse à partir de 2017.

3.4. Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé Publique France (échange des données, périodicité, analyse commune)

Le Centre National de Référence des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* est en contact régulier avec l'Agence Santé Publique France, en la personne du Dr Alexandra Mailles. Par l'intermédiaire du Dr Mailles, le CNR fournit annuellement à l'ECDC ses données de surveillance de la fièvre Q dans le cadre de la surveillance des zoonoses.

3.5. Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

Il n'existe pas de programme de surveillance de la résistance aux anti-infectieux des microorganismes surveillés par le Centre National de Référence des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* car ces bactéries, soumises à peu de pression de sélection, n'ont pas, ou très peu, développé de résistance. Toutefois, la description de quelques souches de sensibilité diminuée à la doxycycline de *Coxiella burnetii* a motivé la recherche plus systématique des mutations décrites chez les patients suivis et traités à Marseille par le Pr Raoult. Dans ce cadre, la détermination de la CMI des souches (lorsqu'elles sont cultivables) à la doxycycline et des dosages sériques réguliers de taux de doxycycline sont réalisés chez les patients suivis et traités.

4 – ACTIVITES d'INFORMATION, de FORMATION et de CONSEIL

4.1 - Former et enseigner les maladies infectieuses et les maladies tropicales

L'URMITE : Unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses et Tropicales Emergentes, dans laquelle est inclus le CNR prend une part importante dans l'enseignement des maladies infectieuses. Elle assure la responsabilité de la spécialité de master « **Maladies Transmissibles et Pathologies Tropicales** » (responsable : B. Lascola) au sein de la mention de Master « **Pathologie Humaine** » qui est elle-même dirigée par un des responsables d'équipe de l'URMITE (J-L Mège). La spécificité de cette spécialité est développer un enseignement intégré, centré autour de paradigmes infectieux afin de jeter les bases d'un approfondissement conceptuel des maladies infectieuses face aux enjeux représentés par l'émergence de nouvelles maladies infectieuses y compris le bioterrorisme, le renouveau de certaines autres et la résistance aux agents anti-infectieux. Elle s'adresse à des étudiants issus des filières scientifiques et de santé et a toujours réussi à mélanger ces deux populations pour un enrichissement mutuel. Le nombre de diplômés depuis 2004 a varié de 18 à 30 par an. La spécialité « Maladies Transmissibles et Pathologies Tropicales » a développé une politique d'accueil des étudiants du Sud qui a été soutenue par la Fondation « Infectiopôle Sud ».

La formation des doctorants occupe une place importante dans l'activité de formation par la recherche du CNR. Les doctorants sont rattachés à l'école doctorale en Sciences de la Vie et de la Santé ED62 qui est dirigée par J-L Mège. En 2016, 93 doctorants et 12 post-doctorants étaient présents dans le laboratoire. Le nombre de Thèses soutenues de 2006 à 2016 (inclus) a été de 72.

La spécialité « Maladies Transmissibles et Pathologies Tropicales » agit en en partenariat avec le CMIT (Collège des Enseignants de Maladies Infectieuses et Tropicales). Aussi s'adresse-t-elle aux professionnels de la santé et aux scientifiques qui désirent se spécialiser dans une démarche associant recherche fondamentale, recherche clinique et recherche appliquée au diagnostic et à la thérapeutique. Elle a pour vocation de former les futurs cadres du diagnostic et du médicament en association avec le monde industriel. Cette spécialité associe notamment recherche fondamentale et recherche clinique.

Trois axes essentiels sont développés dans cet enseignement :

1. Physiopathologie et épidémiologie des maladies infectieuses. En raison de l'orientation des laboratoires participant à l'enseignement, cette analyse est surtout orientée sur les bactéries intracellulaires, les maladies infectieuses tropicales et le VIH.
2. Thérapeutique anti-infectieuse. Il s'agit de travaux mêlant recherche clinique et recherche plus fondamentale ou recherche fondamentale pure avec analyse des mécanismes de résistance, essais de nouvelles drogues, etc.....

3. Analyse moléculaire des agents infectieux. Cet aspect permet d'appréhender les techniques moléculaires d'analyse des microorganismes (génomique, transcriptomique et protéomique) appliquées notamment à la phylogénie, à la taxonomie, à l'identification et au typage des agents infectieux. Bien évidemment, les deux axes précédents sont aussi abordés sous cet angle. L'équipement disponible sur les différentes plateformes des laboratoires permet à l'étudiant d'effectuer son master recherche tout en faisant l'apprentissage de l'utilisation des systèmes les plus récents de production de données à haut débit.

Sur le plan professionnel, ce master a deux objectifs essentiels. Pour les étudiants des filières santé, l'objectif est de permettre d'acquérir les bases nécessaires à l'approche des maladies infectieuses de façon moderne, permettant ainsi de comprendre les méthodes et techniques actuelles tout en développant un esprit critique. Cet aspect devient actuellement indispensable pour tout praticien, y compris des disciplines cliniques, même si il ne débouche pas nécessairement sur un doctorat de recherche. Pour les étudiants des filières scientifiques, ce master représente un mode d'accès aux carrières dans l'encadrement des disciplines médicales, pharmaceutiques et scientifiques tant sur le plan de l'enseignement supérieur et de la recherche que dans le monde hospitalier et industriel. Toutefois, dans ce master recherche, les laboratoires d'accueil fourniront le plus grand nombre possible de postes en thèse d'Université par la mise à disposition de bourses de financements variés. Sur le plan Universitaire, les spécialités concernées sont :

En médecine :

Principalement les sous-sections maladies infectieuses et tropicales, bactériologie-virologie-hygiène (n°45)

les sections médecine interne (n° 53)

Parasitologie et mycologie (n° 45)

Thérapeutique (n° 48)

Biologie moléculaire (n° 44)

Immunologie (n° 47)

En pharmacie :

Sciences du médicament (n°40)

Sciences physico-chimiques pharmaceutiques (n° 39)

Sciences biologiques pharmaceutiques (n° 41)

En Sciences :

Biochimie-Biologie moléculaire (n°64)

Biologie cellulaire (n° 65)

L'enseignement théorique d'une durée de 5 semaines débute au mois de novembre. Il comporte un tronc commun de 2 unités d'enseignement obligatoires, 2 unités d'enseignement spécifique obligatoires, 1 unité spécifique facultative.

L'unité facultative de la spécialité MTPT (Caractérisation et analyse des agents infectieux de culture et/ou d'identification difficiles) peut être remplacée par un module d'une des autres spécialités.

Les unités d'enseignement de la spécialité MTPT se déroulent à la Faculté de Médecine de Marseille à l'exception du module d'enseignement « Thérapeutique anti-infectieuse » qui se déroule à Montpellier.

4.3 – Formation permanente

Dans le but de répondre **aux besoins technologiques de pointe** nécessaires pour mener à bien les projets de recherche, un certain nombre de compétences ont été récemment acquises par l'UMR. Ces compétences, qui se déclinent sous l'aspect de différentes plates-formes nécessitent une **formation des ingénieurs** à l'utilisation des **appareils nouvellement acquis**. Ainsi, les formations dispensées dans l'UMR sont :

- Bioinformatique
- Biologie Moléculaire
- Culture cellulaire
- Génomique
- Hygiène et Sécurité
- Protéomique

Des **formations thématiques dédiées** sont également suivies en fonction des besoins. Il s'agit de séminaires à thèmes organisés par le CNRS, l'INSERM, ou encore par certains fournisseurs. Ponctuellement, des **stages de formation** sont également proposés tels que :

- International FISH Course. Departement of Microbial Ecology (Vienne Autriche)
- Utilisation de la plateforme RNAi (Max Plank Institute, Berlin)
- Formation à l'expérimentation animale (Université Aix-Marseille et CNRS)
- Formation XLab ou Excel (Université Aix-Marseille ou CNRS)

Ces formations et remises à niveau des compétences sont proposées aux ITA concernés au cours des **réunions Ingenering**. Par ailleurs, tout membre de l'UMR peut directement solliciter une formation qui est ensuite validée par le Directeur de l'UMR.

4.4. – Le Site WEB

Présentation du Site Internet de l'Unité des Rickettsies

Le Site Internet de notre unité, dont l'adresse est la suivante <http://www.mediterranee-infection.com/article.php?laref=349&titre=centre-national-de-referance-des-rickettsia-coxiella-et-bartonella> comprend l'ensemble des informations relatives à notre activité.

Sur ce site sont notamment référencés les aspects épidémiologiques, cliniques, diagnostiques et thérapeutiques des **maladies infectieuses et tropicales**, pour lesquelles nous sommes centre de **référence** OMS ou pour lesquels nous disposons d'une expertise internationale (plus de 10 publications internationales sur la thématique).

Ce site permet :

- L'accès à des **fiches d'informations synthétiques** téléchargeables sur nos différents domaines de compétence. Ces fiches comportent notamment les renseignements utiles pour la réalisation et l'envoi de prélèvements à l'unité à des fins diagnostiques ainsi que le ou les correspondants pour chaque thématique.
- L'accès à des **liens** permettant de télécharger les rapports d'activités du CNR des années précédentes

5 – Travaux de recherche et publications du CNR

5.1 – TRAVAUX DE RECHERCHE EN COURS

5.1.1. Recherche sur les arthropodes vecteurs

Depuis l'année 2015 le développement d'un insectarium a permis le développement d'élevages d'arthropodes (tiques poux, puces, moustiques, punaises et triatomes) et des programmes de recherche sur les interactions "arthropodes – microorganismes".

Les élevages de tiques et de poux sont effectués sur lapins.

Les élevages de moustiques sont effectués sur souris mais aussi sur membranes artificielles.

Les élevages de puces, punaises, et triatomes sur membranes.

Les élevages de tiques et poux infectés par des rickettsies s'effectuent en conditions P3.

Les travaux sont effectués autour de 4 axes:

A- Elevages

Plusieurs espèces d'arthropodes sont maintenues : les tiques de chien *Rhipicephalus sanguineus*, les tiques de bétail africain *Amblyomma variegatum*, les tiques du mouton en Europe *Dermacentor marginatus*, le vecteur de la fièvre hémorragique à virus Crimée-Congo *Hyalomma marginatum rufipes* et une tique molle vecteur de la borreliose récurrente à tique en Afrique *Ornithodoros sonrai*. Le laboratoire a également un élevage de poux de corps *Pediculus humanus humanus* et de puces de chat *Ctenocephalides felis*, ainsi que des élevages de moustique-tigre, *Aedes albopictus*, et d'*Anopheles gambiae* forme moléculaire S, le principal vecteur du paludisme. Enfin, nous disposons d'élevages de punaises de lit *Cimex lectularius* et des punaises hématophages vecteurs de la maladie de Chagas, *Triatoma infestans*.

B- Etudes des relations vecteur-pathogène

Les expérimentations ont permis d'étudier les transmissions de *Rickettsia conorii* et *R. massiliae* dans *Rhipicephalus sanguineus*, de *R. africae* dans *Amblyomma variegatum* et de *R. slovaca* et *R. raoultii* dans *Dermacentor marginatus*.

C- Etudes des populations de poux de tête et poux de corps

Le CNR poursuit l'étude de la spécialisation des poux de corps, vecteur de *Rickettsia prowazekii* et *Bartonella quintana*, et des poux de tête.

5.1.2. Génomique et Protéomique

En 2016, parmi les génomes bactériens séquencés par le laboratoire 1 concernait les thématiques du CNR : il s'agissait de celui de *R. raoultii*.

Un axe de recherche est la recherche de protéines antigéniques d'intérêt diagnostique dans la perspective de mise au point de tests sérologiques de troisième génération en forme de test multiplexé intégrant directement des protéines antigéniques en lieu et place des microorganismes entiers. Un autre projet concerne les protéines exprimées différemment par les espèces de

Rickettsia responsables d'infections de sévérités différentes. Enfin, la base de données de spectres MALDI-TOF développée pour l'identification rapide des arthropodes trouvés sur les patients ou dans leur environnement et adressés au CNR continue à être alimentée en nouveaux spectres, notamment en spectres d'espèces de puces, tiques et moustiques infectées par des rickettsies.

5.1.3. Transcriptomique

Le CNR développé un axe de recherche sur l'étude de l'expression des gènes chez les bactéries intracellulaires et un second sur l'étude de la réponse de l'hôte à l'infection *in vitro* et chez les patients. La réponse de l'hôte aux infections a été évaluée *in vitro* dans la configuration d'interaction entre différentes bactéries (*Coxiella burnetii*, *Tropheryma whipplei*, *Rickettsia prowazekii*) ou leurs ligands (lipopolysaccharide) et des cellules cibles du système immunitaire (macrophages) ou non (trophoblastes, cellules épithéliales...). La réponse de l'hôte a été étudiée chez des souris infectées par *C. burnetii* (analyse au niveau hépatique). De plus, l'étude transcriptionnelle a été effectuée au niveau périphérique (du sang total) chez des patients atteints de fièvre Q, notamment présentant des atteintes cardiaques (endocardites). Des prélèvements tissulaires (valves cardiaques, biopsies intestinales, escarres) ont permis l'analyse de l'expression des gènes *in situ* et ainsi permis de comparer les réponses locales et les réponses périphériques.

<i>Coxiella burnetii</i> :	Diversité génomique (en cours)
<i>Rickettsia prowazekii</i> :	Différences transcriptionnelles entre une souche virulente et avirulente
<i>Rickettsia conorii</i> :	Mise au point d'outils pour l'analyse microarray Réponse transcriptionnelle à un stress nutritif Transcriptome <i>in vivo</i> (escarres) ARNome et analyse des ARN non codant (en cours)

5.2 - PUBLICATIONS 2016 SUR LES THEMES DE RECHERCHE DU CNR PAR LES PERSONNELS TITULAIRES ET PUBLICATIONS REFERENCEES DANS LE RAPPORT

Fièvre Q

- 1: Eldin C, Melenotte C, Million M, Cammilleri S, Sotto A, Elsendoorn A, Thuny F, Lepidi H, Roblot F, Weitten T, Assaad S, Bouaziz A, Chapuzet C, Gras G, Labussiere AS, Landais C, Longuet P, Masseur A, Mundler O, Raoult D. 18F-FDG PET/CT as a central tool in the shift from chronic Q fever to *Coxiella burnetii* persistent focalized infection: A consecutive case series. *Medicine (Baltimore)*. 2016 Aug;95(34):e4287. doi: 10.1097/MD.0000000000004287.
- 2: Ka MB, Mezouar S, Ben Amara A, Raoult D, Ghigo E, Olive D, Mege JL. *Coxiella burnetii* Induces Inflammatory Interferon-Like Signature in Plasmacytoid Dendritic Cells: A New Feature of Immune Response in Q Fever. *Front Cell Infect Microbiol*. 2016 Jun 27;6:70. doi: 10.3389/fcimb.2016.00070.
- 3: Angelakis E, Thiberville SD, Million M, Raoult D. Sternoclavicular joint infection caused by *Coxiella burnetii*: a case report. *J Med Case Rep*. 2016 May 31;10(1):139. doi: 10.1186/s13256-016-0948-x.
- 4: Melenotte C, Lepidi H, Nappez C, Bechah Y, Audoly G, Terras J, Raoult D, Brégeon F. Mouse Model of *Coxiella burnetii* Aerosolization. *Infect Immun*. 2016 Jun 23;84(7):2116-23. doi: 10.1128/IAI.00108-16.
- 5: Epelboin L, Nacher M, Mahamat A, Pommier de Santi V, Berlioz-Arthaud A, Eldin C, Abboud P, Briolant S, Mosnier E, Mendonça Gomes Mdo S, Vreden SG, Pierre-Demar M, Lacerda M, Raoult D, Sampaio de Lemos ER, Djossou F. Q Fever in French Guiana: Tip of the Iceberg or Epidemiological Exception? *PLoS Negl Trop Dis*. 2016 May 5;10(5):e0004598. doi: 10.1371/journal.pntd.0004598.
- 6: Eldin C, Mailhe M, Lions C, Carrieri P, Safi H, Brouqui P, Raoult D. Treatment and Prophylactic Strategy for *Coxiella burnetii* Infection of Aneurysms and Vascular Grafts: A Retrospective Cohort Study. *Medicine (Baltimore)*. 2016 Mar;95(12):e2810. doi: 10.1097/MD.0000000000002810.
- 7: Edouard S, Raoult D. Lyophilization to improve the sensitivity of qPCR for bacterial DNA detection in serum: the Q fever paradigm. *J Med Microbiol*. 2016 Jun;65(6):462-7. doi: 10.1099/jmm.0.000253.
- 8: D'Amato F, Eldin C, Raoult D. The contribution of genomics to the study of Q fever. *Future Microbiol*. 2016;11(2):253-72. doi: 10.2217/fmb.15.137.
- 9: Eldin C, Raoult D. Moving from Q fever to *C. burnetii* infection. *Epidemiol Infect*. 2016 Apr;144(6):1163-4. doi: 10.1017/S0950268815002976.
- 10: Million M, Thuny F, Bardin N, Angelakis E, Edouard S, Bessis S, Guimard T, Weitten T, Martin-Barbaz F, Texereau M, Ayouz K, Protopopescu C, Carrieri P, Habib G, Raoult D. Antiphospholipid Antibody Syndrome With Valvular Vegetations in Acute Q Fever. *Clin Infect Dis*. 2016 Mar 1;62(5):537-44. doi:10.1093/cid/civ956.
- 11: Briggs BJ, Raoult D, Hijazi ZM, Edouard S, Angelakis E, Logan LK. *Coxiella burnetii* Endocarditis in a Child Caused by a New Genotype. *Pediatr Infect Dis J*. 2016 Feb;35(2):213-4. doi: 10.1097/INF.0000000000000970.

12: Melenotte C, Million M, Audoly G, Gorse A, Dutronc H, Roland G, Dekel M, Moreno A, Cammilleri S, Carrieri MP, Protopopescu C, Ruminy P, Lepidi H, Nadel B, Mege JL, Xerri L, Raoult D. B-cell non-Hodgkin lymphoma linked to *Coxiella burnetii*. *Blood*. 2016 Jan 7;127(1):113-21. doi: 10.1182/blood-2015-04-639617.

13: Angelakis E, Mediannikov O, Jos SL, Berenger JM, Parola P, Raoult D. Candidatus *Coxiella massiliensis* Infection. *Emerg Infect Dis*. 2016 Feb;22(2):285-8. doi: 10.3201/eid2202.150106.

14: Lamas CC, Fournier PE, Zappa M, Brandão TJ, Januário-da-Silva CA, Correia MG, Barbosa GI, Golebiovski WF, Weksler C, Lepidi H, Raoult D. Diagnosis of blood culture-negative endocarditis and clinical comparison between blood culture-negative and blood culture-positive cases. *Infection*. 2016 Aug;44(4):459-66. doi: 10.1007/s15010-015-0863-x.

Rickettsias

15: Angelakis E, Bechah Y, Raoult D. The History of Epidemic Typhus. *Microbiol Spectr*. 2016 Aug;4(4). doi: 10.1128/microbiolspec.PoH-0010-2015.

16: Parola P, Musso D, Raoult D. *Rickettsia felis*: the next mosquito-borne outbreak? *Lancet Infect Dis*. 2016 Oct;16(10):1112-3. doi:10.1016/S1473-3099(16)30331-0.

17: Tahir D, Socolovschi C, Marié JL, Ganay G, Berenger JM, Bompar JM, Blanchet D, Cheuret M, Mediannikov O, Raoult D, Davoust B, Parola P. New *Rickettsia* species in soft ticks *Ornithodoros hasei* collected from bats in French Guiana. *Ticks Tick Borne Dis*. 2016 Oct;7(6):1089-1096. doi: 10.1016/j.ttbdis.2016.09.004.

18: Laroche M, Marie J, Mediannikov O, Almeras L, Berenger JM, Musso D, Raoult D, Parola P. A novel ehrlichial agent detected in tick in French Polynesia. *Ticks Tick Borne Dis*. 2016 Oct;7(6):1203-1208. doi: 10.1016/j.ttbdis.2016.07.014.

19: Otterdal K, Portillo A, Astrup E, Ludviksen JK, Schjalm C, Raoult D, Olano JP, Halvorsen B, Oteo JA, Aukrust P, Mollnes TE, Nilsson PH. *Rickettsia conorii* is a potent complement activator in vivo and combined inhibition of complement and CD14 is required for attenuation of the cytokine response ex vivo. *Clin Microbiol Infect*. 2016 Aug;22(8):734.e1-6. doi: 10.1016/j.cmi.2016.05.010.

20: Otterdal K, Portillo A, Astrup E, Ludviksen J, Davi G, Holm S, Santilli F, Vitale G, Raoult D, Olano JP, Schjalm C, Halvorsen B, Oteo JA, Mollnes TE, Aukrust P, Nilsson PH. High serum CXCL10 in *Rickettsia conorii* infection is endothelial cell mediated subsequent to whole blood activation. *Cytokine*. 2016 Jul;83:269-74. doi: 10.1016/j.cyto.2016.05.006.

21: Angelakis E, Mediannikov O, Parola P, Raoult D. *Rickettsia felis*: The Complex Journey of an Emergent Human Pathogen. *Trends Parasitol*. 2016 Jul;32(7):554-64. doi: 10.1016/j.pt.2016.04.009.

22: Bhengsri S, Baggett HC, Edouard S, Dowell SF, Dasch GA, Fisk TL, Raoult D, Parola P. Sennetsu Neorickettsiosis, Spotted Fever Group, and Typhus Group Rickettsioses in Three Provinces in Thailand. *Am J Trop Med Hyg*. 2016 Jul 6;95(1):43-9. doi: 10.4269/ajtmh.15-0752.

23: El Karkouri K, Mediannikov O, Robert C, Raoult D, Fournier PE. Genome Sequence of the Tick-Borne Pathogen *Rickettsia raoultii*. *Genome Announc*. 2016 Apr 21;4(2). pii: e00157-16. doi: 10.1128/genomeA.00157-16.

24: Angelakis E, Richet H, Raoult D. *Rickettsia sibirica mongolitimonae* Infection, France, 2010-2014. *Emerg Infect Dis*. 2016 May;22(5):880-2. doi:10.3201/eid2205.141989.

25: Zaharia M, Popescu CP, Florescu SA, Ceausu E, Raoult D, Parola P, Socolovschi C. *Rickettsia massiliae* infection and SENLAT syndrome in Romania. *Ticks Tick Borne Dis*. 2016 Jul;7(5):759-62. doi: 10.1016/j.ttbdis.2016.03.008.

- 26: Bessas A, Leulmi H, Bitam I, Zaidi S, Ait-Oudhia K, Raoult D, Parola P. Molecular evidence of vector-borne pathogens in dogs and cats and their ectoparasites in Algiers, Algeria. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2016 Apr;45:23-8. doi: 10.1016/j.cimid.2016.01.002.
- 27: Lau C, Musso D, Fournier PE, Parola P, Raoult D, Weinstein P. Absence of serological evidence of *Rickettsia* spp., *Bartonella* spp., *Ehrlichia* spp. and *Coxiella burnetii* infections in American Samoa. *Ticks Tick Borne Dis*. 2016 Jul;7(5):703-5. doi: 10.1016/j.ttbdis.2016.02.019.
- 28: Bohacsova M, Mediannikov O, Kazimirova M, Raoult D, Sekeyova Z. *Arsenophonus nasoniae* and *Rickettsia* Infection of *Ixodes ricinus* Due to Parasitic Wasp *Ixodiphagus hookeri*. *PLoS One*. 2016 Feb 22;11(2):e0149950. doi:10.1371/journal.pone.0149950.
- 29: Aubry C, Socolovschi C, Raoult D, Parola P. Bacterial agents in 248 ticks removed from people from 2002 to 2013. *Ticks Tick Borne Dis*. 2016 Apr;7(3):475-81. doi: 10.1016/j.ttbdis.2016.02.003.
- 30: El Karkouri K, Pontarotti P, Raoult D, Fournier PE. Origin and Evolution of Rickettsial Plasmids. *PLoS One*. 2016 Feb 11;11(2):e0147492. doi:10.1371/journal.pone.0147492.
- 31: Leulmi H, Aouadi A, Bitam I, Bessas A, Benakhla A, Raoult D, Parola P. Detection of *Bartonella tamiae*, *Coxiella burnetii* and *rickettsiae* in arthropods and tissues from wild and domestic animals in northeastern Algeria. *Parasit Vectors*. 2016 Jan 20;9:27. doi: 10.1186/s13071-016-1316-9.
- 32: Ehounoud CB, Yao KP, Dahmani M, Achi YL, Amanzougaghene N, Kacou N'Douba A, N'Guessan JD, Raoult D, Fenollar F, Mediannikov O. Multiple Pathogens Including Potential New Species in Tick Vectors in Côte d'Ivoire. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016 Jan 15;10(1):e0004367. doi: 10.1371/journal.pntd.0004367.
- 33: Seligmann H, Raoult D. Unifying view of stem-loop hairpin RNA as origin of current and ancient parasitic and non-parasitic RNAs, including in giant viruses. *Curr Opin Microbiol*. 2016 Jun;31:1-8. doi: 10.1016/j.mib.2015.11.004.
- 34: Mourembou G, Nzondo SM, Ndjoyi-Mbiguino A, Lekana-Douki JB, Kouna LC, Matsiegui PB, Manego RZ, Moukandja IP, Keïta AK, Tissot-Dupont H, Fenollar F, Raoult D. Co-circulation of Plasmodium and Bacterial DNAs in Blood of Febrile and Afebrile Children from Urban and Rural Areas in Gabon. *Am J Trop Med Hyg*. 2016 Jul 6;95(1):123-32. doi: 10.4269/ajtmh.15-0751.
- 35: Rudolf I, Venclíková K, Blažejová H, Betášová L, Mendel J, Hubálek Z, Parola P. First report of *Rickettsia raoultii* and *Rickettsia helvetica* in *Dermacentor reticulatus* ticks from the Czech Republic. *Ticks Tick Borne Dis*. 2016 Oct;7(6):1222-1224. doi: 10.1016/j.ttbdis.2016.07.011.
- 36: Ionita M, Silaghi C, Mitrea IL, Edouard S, Parola P, Pfister K. Molecular detection of *Rickettsia conorii* and other zoonotic spotted fever group rickettsiae in ticks, Romania. *Ticks Tick Borne Dis*. 2016 Feb;7(1):150-3. doi:10.1016/j.ttbdis.2015.10.006.

Bartonella

- 37: Bartley P, Angelakis E, Raoult D, Sampath R, Bonomo RA, Jump RL. Prosthetic Valve Endocarditis Caused by *Bartonella henselae*: A Case Report of Molecular Diagnostics Informing Nonsurgical Management. *Open Forum Infect Dis*. 2016 Nov 9;3(4):ofw202.
- 38: Raoult D. A Personal View of How Paleomicrobiology Aids Our Understanding of the Role of Lice in Plague Pandemics. *Microbiol Spectr*. 2016 Aug;4(4). doi:10.1128/microbiolspec.PoH-0001-2014.
- 39: Davoust B, Marié JL, Dahmani M, Berenger JM, Bompar JM, Blanchet D, Cheuret M, Raoult D, Mediannikov O. Evidence of *Bartonella* spp. in Blood and Ticks (*Ornithodoros hasei*) of Bats, in French Guiana. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2016 Aug;16(8):516-9. doi: 10.1089/vbz.2015.1918.

40: Vayssier-Taussat M, Moutailler S, Féménia F, Raymond P, Croce O, La Scola B, Fournier PE, Raoult D. Identification of Novel Zoonotic Activity of Bartonella spp., France. Emerg Infect Dis. 2016 Mar;22(3):457-62. doi:10.3201/eid2203.150269.

5.3. – COMMUNICATIONS 2016

1: Fournier P.E. Q fever in humans: may the genome predict the pathogenesis? MedVetNet symposium on recent findings in Q fever. April 19-20, 2016. Brussels, Belgium. Invited conference.

2: Fournier P.E. Role of specific PCR in the diagnosis of blood culture-negative endocarditis. 1st ASM Microbe meeting. June 16-20, 2016, Boston, MS, USA. Poster.

3: Fournier P.E. 40^{ème} Anniversaire de l'ANSES. La fièvre Q : un enjeu en santé animale et en santé publique. December 7-8, Sophia-Antipolis, France. Invited conference.

4 : Raoult D. Rickettsial infections in the Mediterranean basin: epidemiology and future trends. May 6, 2016, Brescia, Italy. Invited conference.

6 – EVOLUTION DU CNR EN 2017

6.1 – Déménagement au sein de l'Institut Hospitalo-Universitaire Méditerranée-Infection

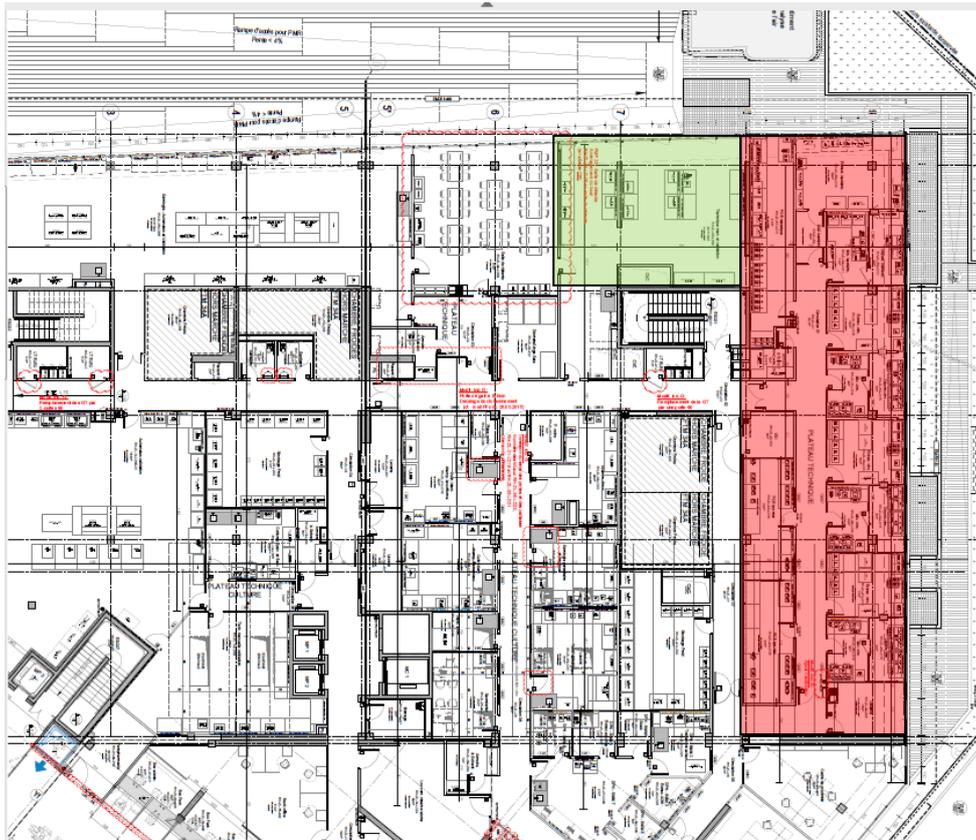
En janvier 2017, le CNR des Rickettsies, Coxiella et Bartonella a déménagé dans les locaux neufs de l'Institut Hospitalo-Universitaire (IHU) Méditerranée-Infection.



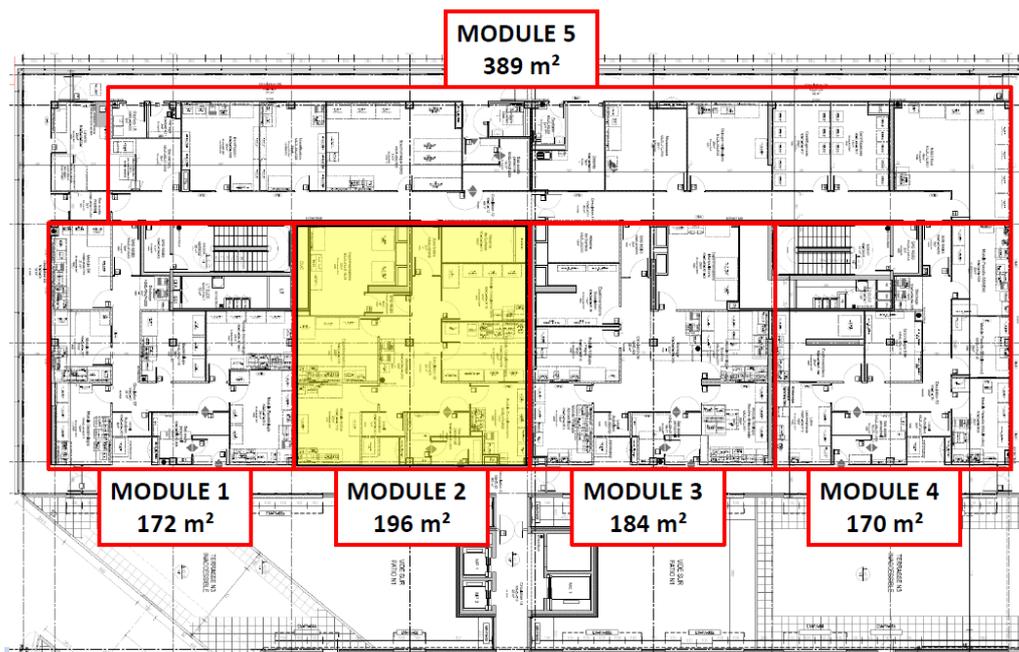
Cet institut dédié à la prise en charge et à l'étude des maladies infectieuses comporte :

- Trois unités d'hospitalisation de maladies infectieuses (75 lits, dont 25 lits en niveau de sécurité biologique 3).
- Le laboratoire de diagnostic microbiologique (bactériologie, virologie, parasitologie) du CHU de Marseille.
- Trois unités de recherche (Unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses et Tropicales Emergentes, UM63, CNRS 7278, IRD 198, Inserm 1095; émergence des pathologies virales, IRD 190, et Sciences Economiques et Sociales de la Santé et Traitement de l'Information Médicale, Inserm S912).
- Des plateformes de culturomique, génomique, microscopie électronique, protéomique, un insectarium, une biobanque et un laboratoire de niveau de sécurité biologique 3 de 1000 m² divisé en 4 modules de 250 m².
- Le CNR des arbovirus et le CNR des Rickettsies, Coxiella et Bartonella.

Les activités de sérologie et détection moléculaire du CNR sont réalisées dans le laboratoire de diagnostic microbiologique de l'IHU Méditerranée-Infection (rez-de-chaussée haut), les activités de culture dans le module 2 du laboratoire de niveau de sécurité biologique 3 (NSB3, troisième étage).



Plan du laboratoire de diagnostic de l'IHU Méditerranée-Infection
(rouge = biologie moléculaire ; vert = sérologie)



Plan du laboratoire NSB3 de l'IHU Méditerranée-Infection (jaune = module dans lequel sont cultivées les bactéries intracellulaires entrant dans le champ de compétences du CNR)