

RAPPORT ANNUEL

D'ACTIVITE 2024

Année d'exercice 2023

CNR Rickettsia, Coxiella et Bartonella

	Organisme / Structure d'hébergement	Responsable
Laboratoire CNR	Aix-Marseille Université, AP-HM	Professeur Pierre-Edouard FOURNIER

Résumé analytique	4
Faits marquants	4
Executive summary	5
Highlights	5
1.Missions et organisation du CNR	6
Organigramme	6
Mission et Organisation	6
Démarche Qualité	6
2.Activités d'expertise	7
2.1 Evolution des techniques	7
2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse	7
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires	7
2.4 Collections de matériel biologique	7
2.5 Activités d'expertises	8
2.6 Activités de séquençage	9
2.7 Partage de séquences produites par les CNR	10
3.Activités de surveillance	11
3.1 Description du réseau de partenaires	11
3.1.1. <i>Collaborations avec l'ECDC</i>	12
3.1.2. <i>Coopérations institutionnelles</i>	12
3.1.3. <i>Collaborations avec les pays étrangers</i>	13
3.1.4. <i>Collaborations avec l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail</i>	15
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	15
3.2.1. <i>Surveillance des rickettsioses, de la fièvre Q et des bartonelloses</i>	15
3.2.2. <i>Diagnostic de la fièvre Q</i>	15
3.2.3. <i>Diagnostic des Rickettsioses</i>	21
3.2.4. <i>Diagnostic des Bartonelloses</i>	23
3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	26
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	27
3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	27
4.Alertes	28
5.Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil	29
5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé	29
5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires	29
5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)	29
6.Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	31
6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	31
6.1.1. <i>Fièvre Q</i>	31
6.1.2. <i>Rickettsia</i>	32

6.1.3. <i>Bartonella</i>	32
6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	33
6.2.4. <i>Communications dans les congrès internationaux :</i>	35
6.2.5. <i>Communications dans les congrès nationaux</i>	35
7.Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux	36
8.Programme d'activité pour les années suivantes	37
8.1. Démarche qualité	37
8.2. Activité de recherche en 2024	37
8.3. Activité d'expertise	37
1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR	38
1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	38
1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	38
1.3 Locaux et équipements	40
1.3.1. <i>Les activités de sérologie et détection moléculaire du CNR (responsables PE. Fournier et F. Fenollar)</i>	40
1.3.2. <i>Les activités de culture du CNR (responsable B. La Scola)</i>	41
1.3.3. <i>Les plateformes techniques de l'IHU auxquelles le CNR a accès</i>	41
1.3.4. <i>Les principaux équipements</i>	43
1.4 Collections de matériel biologique	45
1.4.1. <i>Conservation sécurisée des souches bactériennes</i>	45
1.4.2. <i>Souchier de microorganismes fastidieux</i>	46
1.5 Démarche qualité du laboratoire	50
2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR	51
2.1 Liste des techniques de référence	51
2.1.1. <i>La sérologie</i>	51
2.1.2. <i>Détection moléculaire</i>	52
2.1.3. <i>Culture</i>	53
2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR	54

RESUME ANALYTIQUE

Faits marquants

Résumé analytique des activités pour l'année 2023

La fièvre Q, les rickettsioses et bartonelloses sont des zoonoses communes et endémiques en France, grevées d'un taux de morbidité élevé. Depuis 2017, le CNR des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* est installé au sein de l'Institut Hospitalo-Universitaire Méditerranée-Infection à Marseille. Au cours de l'année 2023, le personnel du CNR a été renouvelé en partie.

En 2023, le CNR a reçu **13086** échantillons de sérum (+14%) provenant de **10267** patients (+11%). Tous les sérums ont été testés pour la présence d'anticorps contre *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* sp. et *Bartonella* sp. De plus, **7715** échantillons biologiques divers (-12 %) provenant de **5570** patients (-6%) ont été reçus pour culture et/ou détection moléculaire. Les échantillons de sérum étaient adressés comme demandes primaires dans **58.7%** des cas. En 2023, le CNR a diagnostiqué **75** nouveaux cas de fièvre Q aiguë (-42% par rapport à 2022), **92** nouveaux cas de fièvre Q persistante focalisée (+9% par rapport à 2022), **129** nouveaux cas de rickettsioses (+134% par rapport à 2022) et **65** nouveaux cas de bartonelloses (-23% par rapport à 2022).

En ce qui concerne la fièvre Q, nous avons observé en France métropolitaine une diminution du nombre de diagnostics de fièvre Q aiguë en 2023 (**68** vs **107** cas en 2022, -36%) mais une augmentation du nombre de diagnostics de formes focalisées de la fièvre Q (fièvre Q chronique), avec **82** cas en 2023 contre **76** en 2022 (+8%).

En Guyane française, le nombre de diagnostics de fièvre Q aiguë a diminué entre 2022 et 2023, passant de **19** à **8** cas (-58%).

Pour ce qui est des rickettsies, le nombre de diagnostics de rickettsioses faits au CNR a augmenté, avec **129** diagnostics (vs **55** en 2022, +134%), dont **72** cas de fièvre boutonneuse méditerranéenne (*Rickettsia conorii*), **13** cas de Scalp Eschar and Neck Lymph-Adenopathy after Tick Bite (*R. raoultii* et *R. slovaca*), **10** cas d'African tick-bite fever (*R. africae*), **8** cas de Lymphangitis Associated Rickettsiosis (*R. sibirica mongolitimonae*), **8** cas de typhus murin (*R. typhi*), **3** cas de typhus des broussailles (*O. tsutsugamushi*) et **1** cas d'infection à *R. felis*.

Au cours de l'année 2023, le nombre de cas d'infections à *Bartonella* a diminué par rapport à 2022, avec **65** patients, dont **46** maladies des griffes du chat et **19** endocardites. Par rapport à 2022, le nombre de diagnostics de maladie des griffes du chat (**46** vs **52**, -11%) a diminué, de même que le nombre de diagnostics d'endocardite (**19** vs **31**, -39%).

EXECUTIVE SUMMARY

Highlights

Analytical summary of activities for year 2023

Q fever, rickettsioses and bartonellosis are common and endemic zoonoses in France, with a high morbidity rate. Since 2017, the French reference center (FRC) for rickettsiae, *Coxiella* and *Bartonella* is located at the Institut Hospitalo-Universitaire Méditerranée-Infection in Marseille. In 2023, the FRC underwent several personnel changes.

In 2023, the FRC received **13,086** serum samples (+14.3% compared to 2022) from **10267** patients (+11%). All sera were tested for the presence of antibodies against *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* sp. and *Bartonella* sp. In addition, **7715** varied biological samples (+12%) from **5570** patients (-6%) were received for culture and / or molecular detection. Serum samples were sent as primary requests in **58.7%** of cases respectively. In 2023, the FRC diagnosed **75** new cases of acute Q fever (-42% compared to 2022), **92** new cases of persistent focused Q fever (+9%), **129** new cases of rickettsioses (+134%) and **65** new cases of bartonellosis (-23%).

Regarding Q fever, in mainland France we observed a decrease in the number of diagnoses of acute Q fever in 2023 (**68** vs **107** cases in 2022, -36%) but an increase in the number of diagnoses of focalized forms of Q fever (chronic Q fever), with **82** cases in 2023 against **76** in 2022 (+8%).

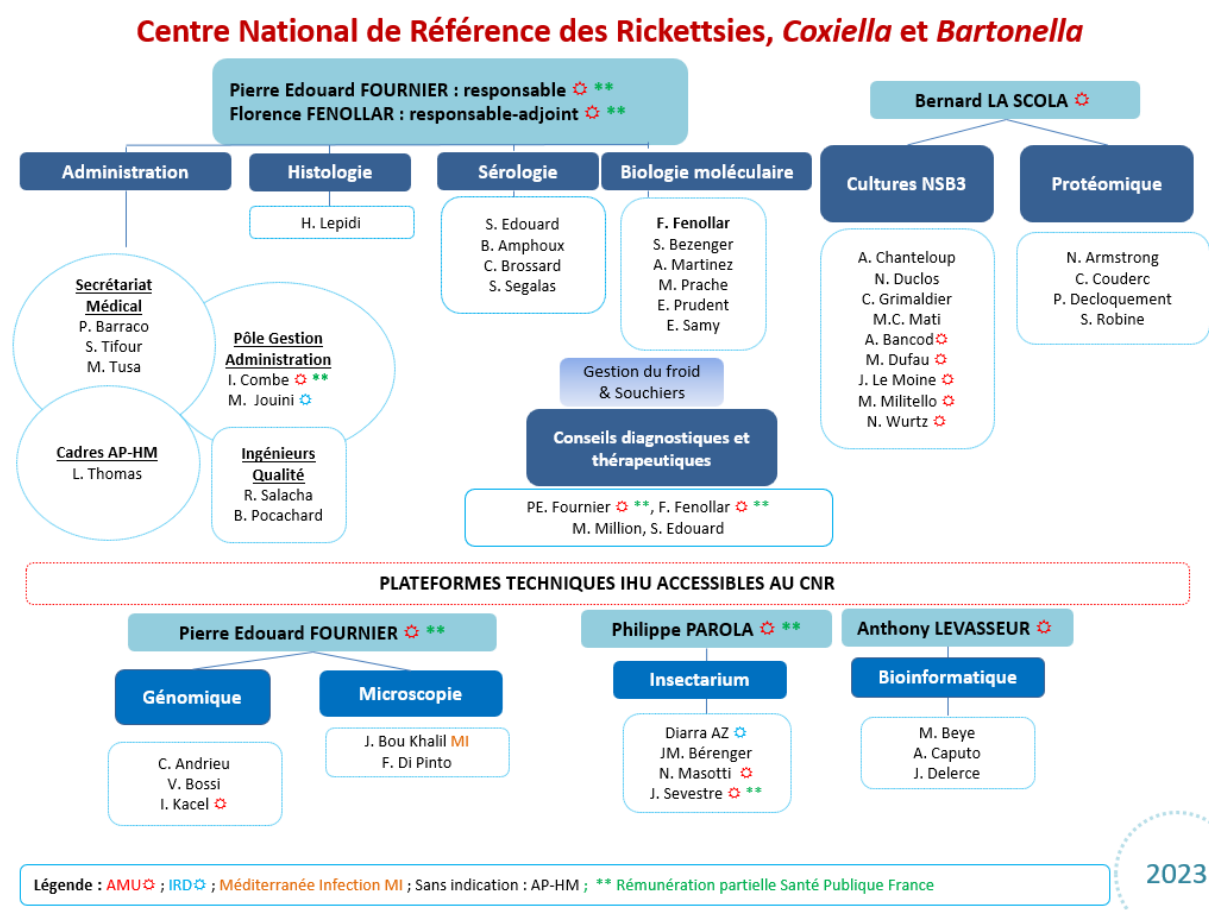
In French Guiana, the number of acute Q fever diagnoses decreased between 2022 and 2023, from **19** to **8** cases (-58%).

Regarding rickettsiae, the number of rickettsial diagnoses made at the FRC increased, with **129** diagnoses (vs **55** in 2022, +134%), including **72** cases of Mediterranean spotted fever (*R. conorii*), **13** cases of Scalp Eschar and Neck Lymph-Adenopathy after Tick Bite (*R. raoultii* and *R. slovaca*), **10** cases of African tick-bite fever (*R. africae*), **8** cases of Lymphangitis Associated Rickettsiosis (*R. sibirica mongolitimonae*), **8** cases of murine typhus (*R. typhi*), 3 cases of scrub typhus (*O. tsutsugamushi*) and 1 case of *R. felis* infection.

In 2023, the number of cases of *Bartonella* infections decreased compared to 2022, with **65** patients, including **46** cat scratch diseases and **19** endocarditis. Compared to 2022, the numbers of cat scratch disease (**46** vs **52**, -11%) and endocarditis (**19** vs **31**, -39%) diagnoses decreased.

1. Missions et organisation du CNR

Organigramme



Mission et Organisation

EN 2023, il n'y a pas eu d'évolution majeure dans l'organisation du CNR.

Démarche Qualité

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, et ont fait l'objet de renouvellements d'accréditation en 2018, 2020 et 2022. Le CNR s'est doté d'un guide de bonne exécution des analyses (GBEA) pour toutes les activités de culture, sérologie et détection moléculaire du laboratoire.

2. Activités d'expertise

RESUME DE LA PRODUCTION D'EXPERTISE EN 2023

- * Plus de **20 000** échantillons cliniques reçus,
- * Plus de **100 000** analyses réalisées,
- * Isolement de 26 souches de *Coxiella burnetii*, d'1 souche de *Rickettsia massiliae* et d'1 souche de *Bartonella raoultii*
- * Séquençage de 26 génomes de *Coxiella burnetii*, 24 de *Rickettsia* sp. et 10 de *Bartonella* sp.

2.1 Evolution des techniques

Aucune évolution de technique n'a eu lieu en 2023 au CNR.

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

En 2023, le CNR a testé le kit VIRCELL *Bartonella henselae* & *quintana* IFA IgG. Sur la première série de sérums de patients testés, nous avons obtenu avec ce kit des résultats similaires à ceux obtenus avec la technique « maison » du CNR. En effet, les titres obtenus avec chacun des sérums testés, que ce soit de patients atteints de maladie des griffes du chat (5) ou d'endocardite à *Bartonella* (5), n'a différé de plus d'une dilution de ceux obtenus par la technique du CNR. En 2024, un nombre plus important de sérums sera testé pour consolider nos conclusions sur ce kit.

De plus, le CNR a été informé récemment que la société EURO BIO, commercialisant en France les kits de sérologie FOCUS *Rickettsia*, *Coxiella* et *Bartonella* cessait de distribuer ces kits.

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Toutes les analyses dont le CNR rend les résultats sont réalisées *in situ*. Le CNR fournit antigènes et ADN à plusieurs laboratoires français, pour le diagnostic de la fièvre Q, des rickettsioses et des bartonelloses, dont les CHU de Lyon, Paris-HEGP, Strasbourg, Tours, le CHG d'Aix en Provence, ainsi qu'étrangers (Argentine, Espagne, Grèce, Slovaquie, Suisse).

2.4 Collections de matériel biologique

En 2023, le CNR a reçu 13086 échantillons de sérums et 7715 échantillons biologiques divers (sang, biopsies, liquides de ponctions, arthropodes ...). De plus, 26 souches de *Coxiella burnetii*, 1 souche de *Rickettsia massiliae* et 1 souche de *Bartonella raoultii* ont été cultivées.

2.5 Activités d'expertises

Echantillons		Type d'analyses réalisées
Type	Nombre	
Souches	0	
Sérums France	114646	SEROLOGIES
Etranger	1440	<u>Antigènes testés pour tout sérum</u> : <i>Rickettsia conorii</i>, <i>R. typhi</i>, <i>Coxiella burnetii</i>, <i>Bartonella henselae</i>, <i>B. quintana</i>, <i>Anaplasma phagocytophilum</i>, <i>Francisella tularensis</i> + <u>Antigènes testés en plus si patient infecté en Europe et bassin méditerranéen</u> : <i>R. slovaca</i>, <i>R. massiliae</i>, <i>R. aeschlimannii</i>, <i>R. helvetica</i>, <i>R. raoultii</i>, <i>R. sibirica mongolitimonae</i> Ou + <u>Antigènes testés en plus si patient infecté en Afrique sub-saharienne</u> : <i>R. africae</i> Ou + <u>Antigènes testés en plus si patient infecté en Asie</u> : <i>R. sibirica mongolitimonae</i>, <i>R. japonica</i>, <i>R. honei</i>, <i>Orientia tsutsugamushi</i> (souches gilliam et Kawazaki), <i>Neorickettsia sennetsu</i> Ou + <u>Antigènes testés en plus si patient infecté en Amérique</u> : <i>R. rickettsii</i>, <i>R. parkeri</i> Ou + <u>Antigènes testés en plus si patient infecté en Australie</u> : <i>R. australis</i>, <i>R. honei</i>
Autres types de prélèvements		PCR
France	7614	PCR <i>C. burnetii</i> (2 gènes), <i>Rickettsia</i> sp. (2 gènes) ou <i>Bartonella</i> sp. (2 gènes) plus éventuellement ARNr 16S et ARNr 18S en fonction de la demande et du contexte épidémiologique et clinique. CULTURE CELLULAIRE Si PCR positive et échantillon reçu dans des conditions permettant la culture, culture sur cellules endothéliales.
Etranger	101	

DÉLAIS MOYENS DE RESTITUTION DES RÉSULTATS

Sérologies	48 h
PCR	48 – 72 h
Culture	10 jours à 2 mois
Séquençage génomique	2 à 5 jours

2.6 Activités de séquençage

Le CNR a accès à plateforme de séquençage génomique de l'IHU qui est spécialisée dans le séquençage génomique à haut débit des bactéries intra-cellulaires et des virus. En 2023, 26 souches de *Coxiella burnetii*, 24 souches de *Rickettsia* et 10 souches de *Bartonella* ont fait l'objet d'un séquençage génomique.

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?	
☐ NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
☒ OUI	Accès interne : plateforme génomique et séquençage
	4 séquenceurs Illumina MiSeq, 1 séquenceur Illumina NovaSeq, 3 séquenceurs Oxford Nanopore Gridlon, 1 séquenceur Oxford Nanopore Promethlon P2.

Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?	
☐ NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
☒ OUI	Accès interne
	Logiciels utilisés : Assemblage SPADIS, SOAP, A5 ; Annotation Prokka.

Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?	
☐ NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
☒ OUI	Surveillance : Pangénome de <i>Coxiella burnetii</i> en collaboration avec le LNR de la fièvre Q (Dr Elodie Rousset, Sophia Antipolis). Séquençage systématique de toutes les souches de <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Bartonella</i> sp. et <i>Rickettsia</i> sp. Isolées au CNR.

Si le séquençage est utilisé par le CNR, décrivez ci-dessous les analyses bio-informatiques conduites (cgMLST, wgMLST, serogroupe/serotype prediction, resistome prediction, analyse phylogénétique, ...) et précisez si elles sont faites en première ligne ou en complément d'autres techniques (indiquez alors lesquelles)

Le séquençage est utilisé par le CNR, pour les analyses bio-informatiques suivantes : wgMLST, analyse phylogénétique, diagnostic direct.

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies :

En 2023, le CNR a participé à l'investigation de la source de *Coxiella burnetii* dans quatre communes proches de Mireval dans l'Hérault, notamment par séquençage génomique de souches animales, a permis d'identifier un élevage ovin à l'origine d'infections humaines récurrentes, et d'identifier un nouveau génotype de *C. burnetii*.

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Nombres de séquences réalisées dans l'année : 26 génomes de *Coxiella burnetii*, 24 génomes de *Rickettsia* et 9 génomes de *Bartonella*.

Modalités de sélection des souches pour séquençage : séquençage systématique des souches de *C. burnetii*, *Rickettsia* et *Bartonella* cultivées au sein du CNR.

Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences : génomes assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?

Dans les bases de données fermées :

Dans des bases de données publiques (European Nucleotide Archive (ENA) par exemple) avec ou sans métadonnées associées : **les séquences génomiques assemblées sont déposées dans GenBank.**

2.7 Partage de séquences produites par les CNR

Les souches séquencées au CNR sont cultivées à partir de prélèvements essentiellement adressés par des laboratoires publics et privés français. Toutes les séquences obtenues sont déposées dans GenBank.

3. Activités de surveillance

ÉLÉMENTS CLEFS DE L'ANNÉE 2023

En 2023, le CNR des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* a reçu **13086** échantillons de sérum provenant de **10267** patients. Tous les sérums ont été testés pour la présence d'anticorps contre *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* sp. et *Bartonella* sp. De plus, **7715** échantillons biologiques divers provenant de **5570** patients ont été reçus pour culture et/ou détection moléculaire. Les échantillons de sérum étaient adressés comme demandes primaires dans **58,7%** des cas. En 2023, le CNR a diagnostiqué **75** nouveaux cas de fièvre Q aiguë (-42% par rapport à 2022), **92** nouveaux cas de fièvre Q persistante focalisée (+9% par rapport à 2022), **129** nouveaux cas de rickettsioses (+134% par rapport à 2022) et **65** nouveaux cas de bartonelloses (-23% par rapport à 2022).

En ce qui concerne la fièvre Q, nous avons observé en France métropolitaine une diminution du nombre de diagnostics de fièvre Q aiguë en 2023 (**68** vs **107** cas en 2020, -36%) mais une augmentation du nombre de diagnostics de formes focalisées de la fièvre Q (fièvre Q chronique), avec **82** cas en 2023 contre **76** en 2022 (+8%).

En Guyane française, le nombre de diagnostics de fièvre Q aiguë a diminué entre 2022 et 2023, passant de **19** à **8** cas (-58%).

Pour ce qui est des rickettsies, le nombre de diagnostics de rickettsioses faits au CNR a augmenté, avec **129** diagnostics (vs **55** en 2022, +134%), dont **72** cas de fièvre boutonneuse méditerranéenne (*Rickettsia conorii*), **13** cas de Scalp Eschar and Neck Lymph-Adenopathy after Tick Bite (*R. raoultii* et *R. slovaca*), **10** cas d'African tick-bite fever (*R. africae*), **8** cas de Lymphangitis Associated Rickettsiosis (*R. sibirica mongolitimonae*), **8** cas de typhus murin (*R. typhi*), **3** cas de typhus des broussailles (*O. tsutsugamushi*) et **1** cas d'infection à *R. felis*.

Au cours de l'année 2023, le nombre de cas d'infections à *Bartonella* a diminué par rapport à 2022, avec **65** patients, dont **46** maladies des griffes du chat et **19** endocardites. Par rapport à 2022, le nombre de diagnostics de maladie des griffes du chat (**46** vs **52**, -11%) a diminué alors que le nombre de diagnostics d'endocardite a augmenté (**19** vs **31**, -39%).

3.1 Description du réseau 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 Lyon (Pr. VANDENESCH), Paris (Pr. MAINARDI, Pr. WOERTHER), Strasbourg (Pr. JAULHAC), Tours (Pr. MEREGHETTI) et du CHG d'Aix en Provence (Dr. BRIEU) ainsi qu'à l'étranger (Argentine, Espagne, Grèce, Russie, Slovaquie, Suisse, Taiwan...).

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

3.1.1. 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. Le Pr Parola a créé EuroTravNet qui est actuellement dirigé par le Dr Philippe Gautret. 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 proposé aux 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).

3.1.2. Coopérations institutionnelles

Le CNR collabore étroitement avec l'ESCCAR (European Society for Chlamydioses, Coxiellosis, Anaplasmosis, Rickettsioses and other arthropod-borne intracellular bacteria) depuis sa création. En 2016 et 2017, le Pr Fournier a été président de l'ESCCAR et fait partie du board depuis. En 2017, le Pr Fournier a organisé à Marseille, dans les locaux de l'IHU Méditerranée-Infection le congrès joint de l'ESCCAR et de l'American Society for Rickettsiology.

Le CNR collabore avec les cinq centres collaborateurs OMS sur les rickettsioses (ci-dessous) et avec l'institut Pasteur d'Athènes, dont le laboratoire de diagnostic est dirigé depuis 2020 par le Dr Emmanouil ANGELAKIS, ancien membre du CNR.

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

- Argentine : M. Prieto – Réseau national de surveillance des rickettsioses
 - Belgique : M. Hing - CNR belge des Rickettsies
 - Danemark : B. Jensen – CNR danois des Rickettsies
 - Grèce : E. Angelakis – Institut Pasteur d'Athènes
 - Suède : S. Vene – Stockholm
 - Suisse : A. Dumoulin – Sion, G. Greub - Lausanne
 - USA : C. Paddock – CDC
-

3.1.3. Collaborations avec les pays étrangers

Le CNR a noué des collaborations avec de nombreuses équipes autour du monde. De nombreux échanges de chercheurs ont notamment été réalisés. Des coopérations spécifiques dans le domaine du diagnostic des nouvelles maladies infectieuses ont été conduites avec les institutions suivantes :

- institut de Médecine Tropicale d'Anvers
- Shangaï II
- Université de Pékin
- SPS (Japon)
- Welcome trust d'Oxford (Grande-Bretagne, Thaïlande) et Hôpital de Ventiane (Laos)
- Hôpital de Tamilnadu (Inde)
- Hôpital de Bangkok (Thaïlande)
- OMSK Scientific Research Institute of Natural Foci Infections (Omsk, Russie)
- Hôpital de Tunis (Tunisie)
- Université de Sfax (Tunisie)
- Université de Sousse (Tunisie)
- Hôpital de Batna (Algérie)
- Hôpital d'Oran (Algérie)
- Institut Pasteur Alger (Algérie)
- Institut Pasteur Athènes (Grèce)
- Institut Pasteur Casablanca (Maroc)
- Université d'Edirne (Turquie)
- Hôpital de Bamako (Mali)
- Hôpital Principal de Dakar (Sénégal)
- Université de Lausanne (Suisse)
- Université de Palerme (Italie)
- Hôpital d'Oslo (Norvège)

- Institut Vétérinaire de Palmerston (Nouvelle-Zélande)
- CDC Atlanta (USA)

Les collaborateurs étrangers du CNR comportent notamment :

Pays	Correspondant	Ville
Europe		
Belgique	Dr Steven Van Den Broucke	Anvers
	Dr Monny Hing	Bruxelles
Brésil	Dr Adriano Pinter	Sao Paolo
Espagne	Pr Jose Oteo	Logrono
Grande Bretagne	Pr Richard Birtles	Manchester
Grèce	Dr Emmanouil Angelakis	Athènes
	Pr Achilleas Gikas	Heraklion
Italie	Dr Laura Franzin	Turin
Norvège	Pr Mogens Jensenius	Oslo
Portugal	Dr Anna Santos	Lisbonne
	Dr Rita de Sousa	Lisbonne
Russie	Pr Stanislav Shpynov	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
	Pr Najet Mouffok	Oran
	Pr Rachid Saile	Casablanca
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
	Pr John Stenos	Geelong
Guyane française	Dr Didier Musso	Cayenne
Amériques		
Canada	Pr Thomas J. Marrie	Halifax
Saint Kitts/Nevis	Pr Patrick Kelly	Basseterre
USA	Dr Christopher Paddock	Atlanta
	Dr Marina Eremeeva	Atlanta

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

Le CNR des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* a résigné en 2021 une convention de coopération scientifique avec le 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*. Celle étude au long cours s'est poursuivie en 2023.

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

3.2.1. 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.

3.2.2. Diagnostic de la fièvre Q

En 2023, 13086 échantillons de sérum provenant de 10267 patients ont été testés au CNR pour la présence d'anticorps contre *C. burnetii* contre 11446 prélèvements de 9246 patients en 2022 (+14%). De plus, nous avons reçu 7715 échantillons divers (sang, biopsies ganglionnaires, valves cardiaques, biopsies vasculaires, osseuses, ...) de 5570 patients (contre 8776 échantillons de 5913 patients en 2022, -5,8%) pour diagnostic moléculaire et culture.

A. Diagnostic sérologique

Au total, **402 patients** se sont révélés positifs en IgG ($\geq 1:100$) et/ou IgM ($\geq 1:50$). **Soixante-quinze** nouveaux cas de fièvre Q aiguë ont été diagnostiqués en 2023 contre **127** (-42%) en 2022, et **92** nouveaux cas de fièvre Q

persistante focalisée contre **84** (+9,5%) en 2022. Enfin, **235** patients présentaient une cicatrice sérologique de fièvre Q ancienne ou un profil de fièvre Q persistante focalisée diagnostiquée avant 2023.

B. Diagnostic par biologie moléculaire

Cent quatre-vingt-huit prélèvements cliniques de 90 patients se sont révélés positifs pour *C. burnetii* en détection moléculaire.

C. Diagnostic par culture

En outre, **26** souches de *Coxiella burnetii* ont été isolées en culture cellulaire de biopsies de valves cardiaques (7), de biopsies d'anévrisme de l'aorte (6), de biopsies osseuses (5) et d'échantillon de sang EDTA (8).

D. Fièvres Q aiguës

Le nombre de patients atteints de fièvre Q aiguë en 2023 et pour lesquels le CNR a reçu des prélèvements était de **75** répartis en **63** patients en France métropolitaine, **8** patients en Guyane française, **2** patients en Italie, **1** patient à la Réunion et **1** ayant contracté la fièvre Q au Mexique. L'incidence de la fièvre Q aiguë en France (métropole et départements d'Outre-Mer) calculée à partir des diagnostics obtenus au CNR en 2023 est de **0.08** pour 100.000 personnes, en baisse par rapport à 2022 (0.15). Ce taux d'incidence est un taux minimum qui sous-estime la réalité puisque la maladie n'est pas à déclaration obligatoire. Trois cas groupés de fièvre Q ont été décelés en 2023 en France, dont l'un (3 patients) dans le Vaucluse, le second (2 patients) dans les Bouches du Rhône, et le troisième (3 patients) dans le Pas-de-Calais. Parmi les 63 patients atteints de fièvre Q aiguë contractée en France métropolitaine, **40 (63.5%)** étaient de sexe masculin (sex ratio M/F 1.7). L'âge moyen des patients atteints de fièvre Q était de **50.7 +/- 19.4** ans. Le plus jeune patient atteint de fièvre Q aiguë avait 5 ans, et le plus âgé 79 ans. **Quarante-deux** des 63 patients atteints de fièvre Q aiguë présentaient une hépatite fébrile (68.2%), **9** une pneumonie (14.3%), **6** une fièvre isolée (9.5%), **1** une péricardite (1.6%), **1** une méningo-encéphalite (1.6%), **1** une méningo-radiculite (1.6%), **1** une endocardite aiguë (1.6%), **1** une ostéomyélite multifocale (1.6%) et **1** une uvéite (1.6%) (Tableau 3).

Tableau 3 : Données démographiques des cas de fièvre Q aiguë diagnostiqués au CNR en 2020

Forme Clinique	Nombre	Age moyen +/- écart-type	Sex ratio M/F
Hépatite	42	51 +/- 19	1.5
Pneumonie	9	55 +/- 14	3.5
Fièvre isolée	6	52 +/- 16	6/0
Péricardite	1	16*	1/0
Méningo-encéphalite	1	71*	1/0¶
Méningo-radiculite	1	54*	1/0¶
Endocardite aiguë	1	51*	1/0¶
Ostéomyélite multifocale	1	5*	1/0¶
Uvéite	1	74*	0/1¶

* L'âge des patients est indiqué individuellement ; ¶ Le genre des patients est indiqué individuellement

La répartition temporelle des cas métropolitains de fièvre Q aiguë en fonction du mois du diagnostic pour 2023 montre un pic de mai à août (54%), comme en 2021 et 2022 (Figure 1). La répartition géographique des cas métropolitains de fièvre Q en 2023 est présentée dans la Figure 2. La majorité des nouveaux cas de fièvre Q aiguë (41.3%) a été diagnostiquée dans la région Provence-Alpes-Côte d'Azur (PACA), suivie par les régions Auvergne-Rhône-Alpes (20.6%), Occitanie (9.5%), Nouvelle Aquitaine (9.5%) et Centre-Val de Loire (7.6%).

Outre-mer, la Guyane est la région française où la fièvre Q a la plus forte incidence, avec **8** nouveaux cas de fièvre Q aiguë diagnostiqués en 2023 (Figure 3), soit une incidence pour 100.000 habitants de **2.5**, en augmentation par rapport à l'année 2022 (5.9). Parmi les 8 patients atteints de fièvre Q aiguë contractée en Guyane, 6 (**75%**) étaient de sexe masculin (sex ratio M/F 3.0). L'âge moyen des patients atteints de fièvre Q était de **53.0 +/- 14.1** ans. Le plus jeune patient atteint de fièvre Q aiguë avait 33 ans, et le plus âgé 80 ans. Au plan clinique, la fièvre Q en Guyane s'est manifestée en 2023 en majorité par une pneumonie interstitielle fébrile (7 patients, 87.5%), suivie de fièvre isolée (1 patient, 12.5%), ce qui diffère significativement à nouveau de la fièvre Q aiguë en métropole ($p < 10^{-2}$).

Enfin, le CNR a diagnostiqué un cas de fièvre Q aiguë contracté à la Réunion, 2 en Italie et 1 au Mexique.

Figure 1. Répartition annuelle des cas de fièvre Q aiguë diagnostiqués par le CNR en 2023 en France métropolitaine, par mois de diagnostic

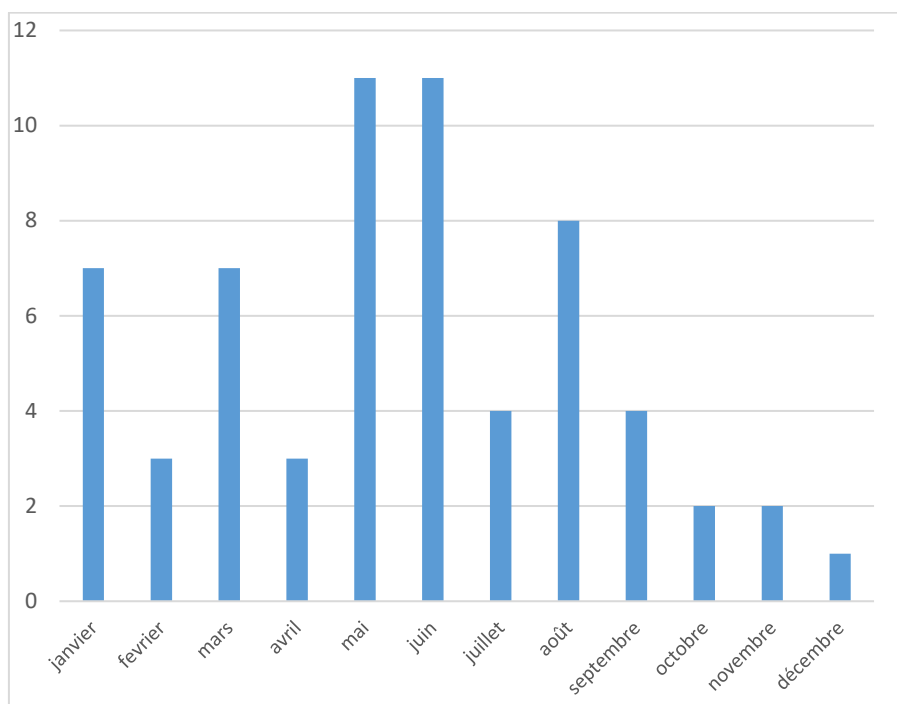


Figure 2. Répartition géographique des cas de fièvre Q aiguë diagnostiqués par le CNR en France métropolitaine en 2023

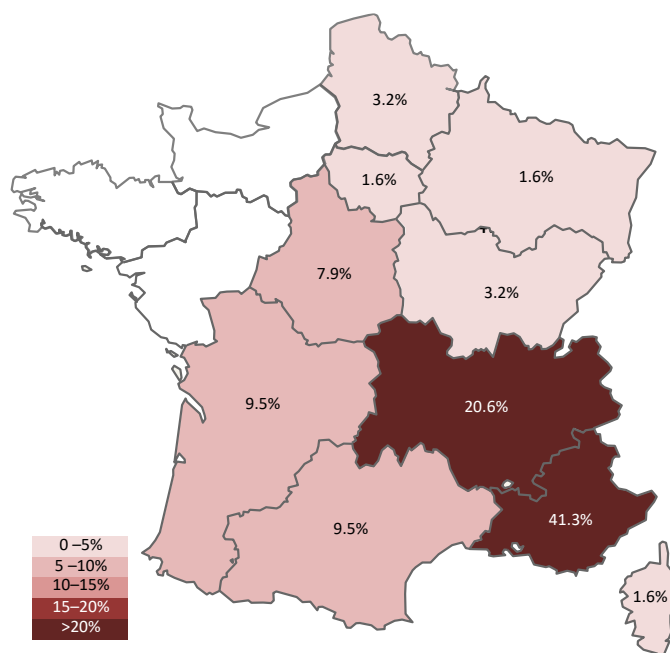
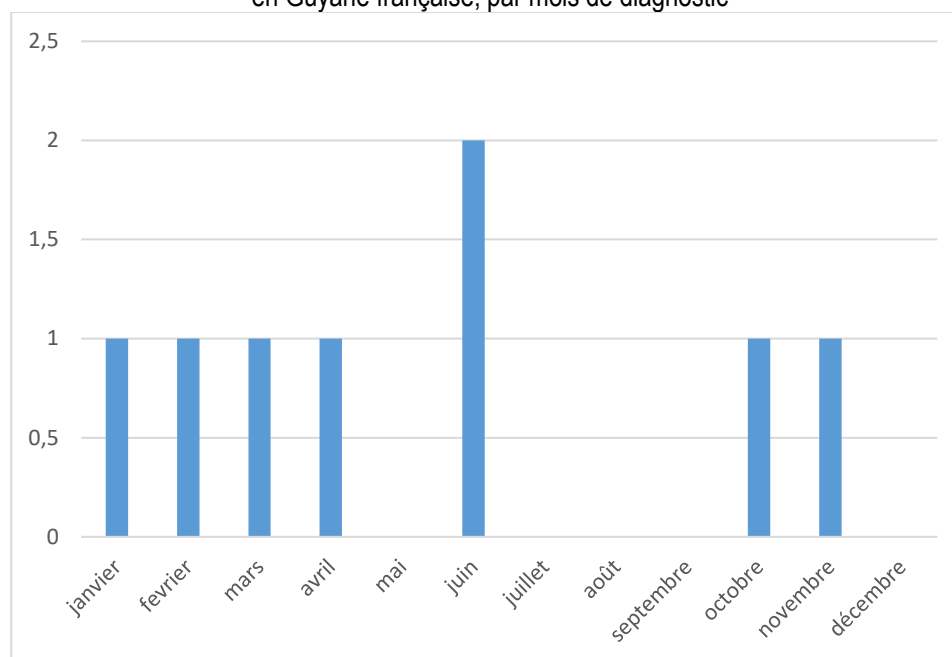


Figure 3. Répartition annuelle des cas de fièvre Q aiguë diagnostiqués par le CNR en 2023 en Guyane française, par mois de diagnostic



E. Epidémies de fièvre Q aiguë en France en 2023

Trois cas groupés de fièvre Q ont été

Nous avons été alertés par Santé Publique France sur deux cas de fièvre Q survenus parmi des employés de l'abattoir de Montmorillon (département de la Vienne). Il s'agissait de deux hommes de 24 et 35 ans, en contact avec des moutons, ayant développé à la même période (mai 2022) un tableau clinique associant fièvre à 40°C, pneumonie, dyspnée, cytolyse hépatique et insuffisance rénale aiguë ayant nécessité leur hospitalisation au centre hospitalier de Poitiers. Le diagnostic a été confirmé chez le premier par sérologie, et chez le second par PCR sur sang. Les deux patients ont guéri sous doxycycline.

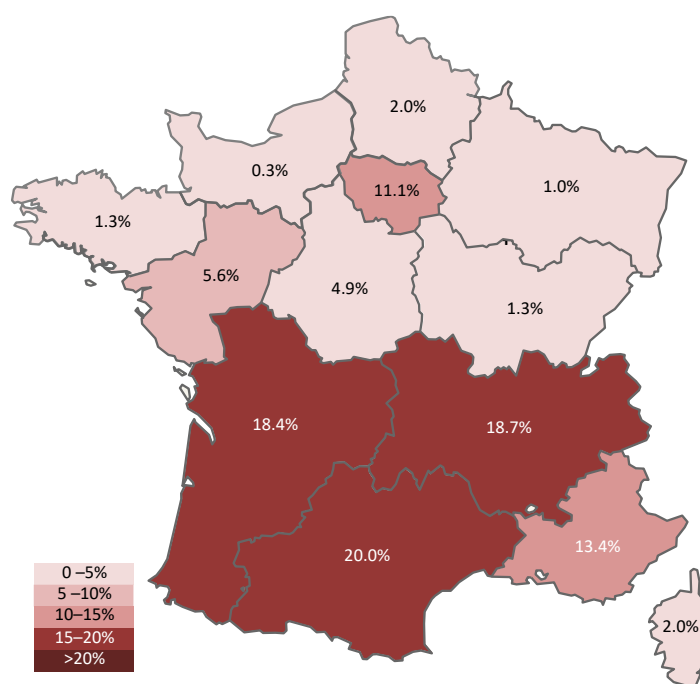
F. Formes persistantes focalisées d'infections à *C. burnetii*

Quatre-vingt-douze nouveaux cas d'infection persistante focalisée à *C. burnetii* (fièvre Q chronique) ont été diagnostiqués par le CNR en 2023 contre **84** en 2022 (+9.5%). Parmi ces patients, le sex ratio H/F était de **4.7** (76/16) et l'âge moyen était de **64.0 +/- 18.4** ans. Parmi les 92 patients diagnostiqués comme ayant une infection focale à *C. burnetii* **49** avaient une endocardite (53.2%), dont 1 souffrait également d'infection vasculaire, **31** une infection vasculaire (33.7%) dont 3 étaient également atteints de spondylodiscite, **6** une infection ostéo-articulaire (6.5%), **3** d'infections en cours de grossesse (3.3%) dont 1 a fait une fausse-couche, **1** une péricardite (1.1%), **1** une uvéite (1.1%) et **1** une cholécystite (1.1%). Les patients atteints d'infections vasculaires présentaient un âge plus élevé que ceux présentant une endocardite (72.0 +/- 11.0 ans vs 61.0 +/- 20.1 ans). Concernant l'origine des patients présentant une forme persistante focalisée de fièvre Q en France métropolitaine, les régions Nouvelle Aquitaine (20 cas), PACA (16 cas), Occitanie (12 cas) et Auvergne (11 cas) étaient celles où les plus grands nombres de cas étaient diagnostiqués, reflétant les incidences observées pour les formes aiguës.

Aucune des maladies surveillées par le CNR des rickettsioses, de la fièvre Q et des bartonelloses n'étant à déclaration obligatoire en dehors du typhus épidémique (dont aucun cas n'a été diagnostiqué en 2023), les données du CNR ne reflètent que partiellement leur épidémiologie au niveau national. L'enquête réalisée auprès de 40 laboratoires de microbiologie de CHU en 2022 n'ayant pas été contributive en termes de complétion des données nationales, nous avons en 2023, comme en 2022, analysé les données fièvre Q disponibles dans le PMSI. Ces données ont été extraites par le département d'information médicale du CHU de Marseille.

Pour la fièvre Q, le code A78 (diagnostic de fièvre Q) a été utilisé et a permis de détecter **328** patients ayant bénéficié d'un séjour hospitalier (y compris en consultation). Ce nombre est proche de celui obtenu en 2022 (324 patients). La répartition géographique de ces patients est relativement similaire à celle observée à partir des données du CNR en ce qui concerne les régions Auvergne-Rhône-Alpes, Nouvelle-Aquitaine, Occitanie et Provence-Alpes-Côte d'Azur qui sont les premières en nombres de cas (Figure 4). En revanche, la répartition observée ci-dessous diffère car des cas ont été détectés dans toutes les régions de France, et la région Ile-de-France arrive en cinquième position.

Figure 4. Répartition géographique des cas métropolitains de fièvre Q extraits du PMSI en 2023



Dans le but d'évaluer les formes cliniques de la fièvre Q, le code A 78 a été croisé avec les codes I330, I339, I390, I1391, I1392, I1393, I1394, I1398 (endocardite), A415, K7827 (infection vasculaire), I400 (myocardite), I321 (péricardite), K720, K721, K729, K770 (hépatite), G008, G009, G028, G042, G048, G050 (méningite), J156, J158 (pneumonie), O03, O039, O04* (quel que soit le ou les chiffres après O04), O05, O06, O358, O364 (avortement).

Parmi les 328 cas de fièvre Q extraits du PMSI pour 2023, il a été possible d'identifier **48** cas d'endocardite, **34** infections vasculaires, **9** hépatites, **5** pneumonies, **2** myocardites et **2** méningites. Parmi ces diagnostics, **82** sont

cas de fièvre Q focalisée (endocardites et infections vasculaires). On peut donc estimer que le nombre de cas de fièvre Q aiguë codés dans le PMSI en 2023 était de 246, soit plus de trois fois plus que le nombre de cas répertoriés par le CNR. De plus, les formes aiguës de fièvre Q étant souvent polymorphes et bénignes, ou d'évolution rapidement favorable sous doxycycline, il est probable que de nombreux cas ne soient pas répertoriés dans le PMSI.

En revanche, les données PMSI concernant les formes focalisées de fièvre Q, plus sévères et nécessitant souvent une prise en charge hospitalière, reflètent probablement plus fidèlement l'incidence de ces infections. Les 48 cas d'endocardite et 34 cas d'infections vasculaires sont proches des 49 endocardites et 31 infections vasculaires répertoriées par le CNR. En revanche, le CNR a détecté 12 cas d'autres formes de fièvre Q focalisée, dont 6 infections ostéo-articulaires et 3 infections au cours de la grossesse.

Les données 2023 confirment celles de 2022 : les données du CNR sous-estiment l'incidence des formes aiguës de fièvre Q mais reflètent assez fidèlement celle des formes focalisées de la maladie.

3.2.3. Diagnostic des Rickettsioses

En 2023, 129 cas de rickettsioses ont été diagnostiqués au CNR contre 55 en 2022 (+134%).

A. Diagnostic sérologique

Parmi les **10267** patients testés, un diagnostic de rickettsiose a été porté chez **129** patients (Figure 4). L'augmentation importante du nombre de diagnostics (+134% par rapport à 2022) est liée au fait que le laboratoire CERBA au Maroc a transmis au CNR les sérums de tous les patients suspects de rickettsiose, parmi lesquels **46** cas de fièvre boutonneuse méditerranéenne (FBM, *R. conorii*) ont été diagnostiqués. Outre ces cas, le CNR a détecté **26 cas de FBM**, **13 cas de Scalp Eschar and Neck Lymph-Adenopathy after Tick Bite** (SENLAT, *R. slovaca* [13] et *R. raoultii* [1]), **10 cas d'African tick-bite fever** (ATBF, *R. africae*), **8 cas de Lymphangitis Associated Rickettsiosis** (LAR, *R. sibirica mongolitimonae*), **8 cas de typhus murin** (TM, *R. typhi*), **3 cas de typhus des broussailles** (TB, *Orientia tsutsugamushi*) et **1 cas de fièvre boutonneuse à puces** (FBP, *R. felis*). Les caractéristiques des patients infectés par type d'infection ainsi que le lieu géographique de la piqûre lorsqu'il était connu figurent dans le Tableau 4. La distribution temporelle des cas de rickettsioses est montrée dans la Figure 5.

B. Diagnostic par biologie moléculaire

Neuf cent soixante-dix-neuf patients ont fait l'objet d'une détection moléculaire. **Soixante** (6.1%) de ces patients se sont révélés positifs. La nature des prélèvements les plus fréquemment positifs étaient les biopsies cutanées d'escarre (51%), les écouvillons d'escarre (47%) et les échantillons de sérum (2%).

C. Diagnostic par culture

Une souche de *Rickettsia massiliae* a été isolée d'une culture cellulaire à partir d'un *Rhipicephalus sanguineus* prélevé sur un patient asymptomatique.

D. Répartition des cas de rickettsioses diagnostiqués

Quarante-six des 72 cas de FBM ont été diagnostiqués au Maroc. Les autres cas de FBM avaient été contractés en majorité en été, en France métropolitaine (PACA, 12 cas, et Occitanie, 7 cas), Algérie, Tunisie et Grèce (Figure 4, Tableau 4), qui sont des régions endémiques pour cette rickettsiose associée à la tique brune du chien, *Rhipicephalus sanguineus*. Les 13 patients présentant un tableau de SENLAT sont issus des régions suivantes : Auvergne-Rhône-Alpes, Bourgogne-Franche Comté, Corse, Grand est, PACA, Pays de la Loire et Italie. La maladie, transmise par des tiques du genre *Dermacentor*, a été majoritairement contractée de février à juin. Les 10 cas d'ATBF ont été contractés lors de la visite de parcs animaliers en Afrique du sud (8) et au Zimbabwe (1), ou au Sénégal (1). La maladie est endémique et transmise par les tiques du genre *Amblyomma*. Les 8 patients présentant une LAR ont été infectés en régions Occitanie (5) et PACA (3). Les cas sont survenus en majorité entre avril et juin (Figure 4). Les 8 cas de typhus murin ont été contractés à la Réunion (5) en janvier, mars, juin et septembre, en Guinée Bissau, Maroc et Tunisie. Les 3 cas de typhus des broussailles ont été diagnostiqués chez des patients ayant voyagé en Indonésie, au Laos et au Népal. Enfin, le cas d'infection à *R. felis* est survenu en juin chez un patient du Vaucluse n'ayant pas voyagé.

Figure 5. Répartition mensuelle des cas de rickettsioses diagnostiqués en 2023, par mois de diagnostic

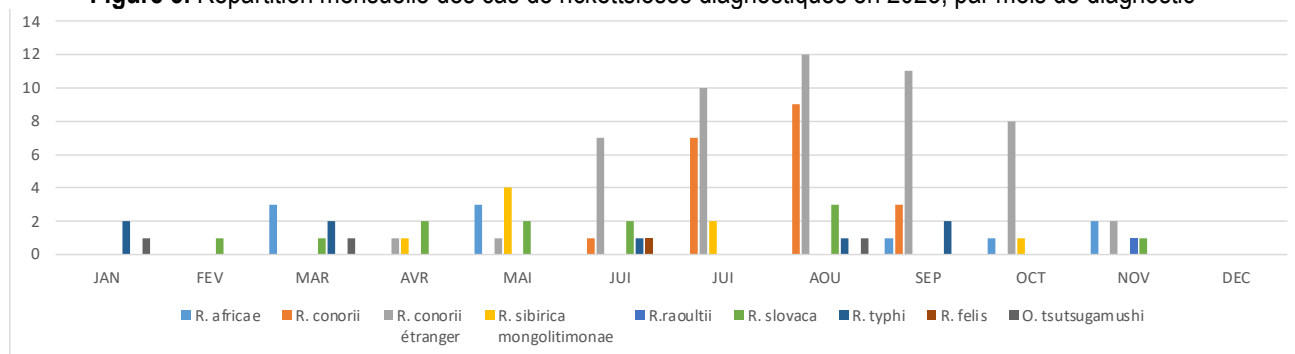


Tableau 4. Caractéristiques des patients chez lesquels un diagnostic de rickettsiose a été posé en 2023 (N = 129)

Infection	Sex ratio H/F	Age moyen, déviation standard	Lieu de piqûre
Fièvre boutonneuse méditerranéenne	48/24	53.0 +/- 17.7	PACA, Algérie, Grèce, Tunisie
SENLAT	3/10	46.0 +/- 26.3	Auvergne-Rhône-Alpes, Bourgogne-Franche Comté, Corse, Grand Est, PACA, Pays de la Loire, Italie
African tick-bite fever	7/3	62.0 +/- 13.0	Afrique du Sud, Sénégal Zimbabwe
Lymphangitis Associated Rickettsiosis	3/5	45.0 +/- 32.9	Occitanie, PACA

Typhus murin	5/3	53.0 +/- 23.5	La Réunion, Guinée-Bissau, Maroc, Tunisie
Typhus des broussailles	2/1	27, 27, 67	Indonésie, Laos, Népal
Fièvre boutonneuse à puce	0/1	63	PACA (Vaucluse)

E. Données rickettsioses 2023 du PMSI

Pour la première fois, les données rickettsies du PMSI ont été extraites et analysées. Les codes A77 et A79 (diagnostic de rickettsiose) ont été utilisés et ont permis de détecter **102** patients ayant bénéficié d'un séjour hospitalier (y compris en consultation). Ce nombre est supérieur de 22.9% à celui des diagnostics obtenus par le CNR (83 si l'on exclut les données du laboratoire CERBA au Maroc). Toutefois, il, est difficile de comparer les deux jeux de données. En effet, les codes PMSI ne permettent pas de discriminer toutes les rickettsioses comme le fait le CNR. De plus, de nombreux cas de rickettsioses étant contractés par les patients à l'occasion de déplacements en zones d'endémies, la répartition des diagnostics telle qu'elle est répertoriée dans le PMSI, par région d'hospitalisation, n'est pas nécessairement corrélée au lieu de contamination, et donc à l'espèce de *Rickettsia* en cause. En témoigne les 17 cas de rickettsiose répertoriés en Ile de France, région dans laquelle il n'y a pas de rickettsiose endémique.

3.2.4. Diagnostic des Bartonelloses

En 2023, **65 cas d'infections à *Bartonella* sp.** ont été diagnostiqués au CNR, contre **85** en 2022 (-23.5%). Quarante-six de ces patients étaient atteints de **maladie des griffes du chat (MGC)**. Un diagnostic d'**endocardite** a été porté chez **19** patients : à *B. henselae* (**14** patients) et *B. quintana* (**5** patients).

A. Diagnostic sérologique

Vingt-sept patients se sont révélés positifs (taux d'IgG $\geq 1 : 100$) en sérologie. Les sérums positifs étaient ceux de patients atteints d'endocardite ou de maladies des griffes du chat.

B. Diagnostic par biologie moléculaire

Cinq cent quatre-vingt-huit patients ont fait l'objet d'une détection moléculaire. **Cinquante-quatre** (6.1%) de ces patients se sont révélés positifs. La nature des prélèvements les plus fréquemment positifs étaient les biopsies ganglionnaires d'escarre (91%).

C. Diagnostic par culture

Une souche de *Bartonella raoultii* a été isolée d'une culture à partir du sang de souris *Mastomys erythroleuceus* prélevées au Sénégal.

D. Maladie des griffes du chat

Un diagnostic de maladie des griffes du chat (MGC) a été porté chez 46 patients (Figure 6). Les patients atteints de MGC étaient majoritairement des hommes (27/19) d'un âge moyen de 34.0 +/- 19.0 (contre 32.0 +/- 21.3 ans pour les femmes). La Figure 6 montre la répartition des cas de MGC en fonction du mois de diagnostic avec une forte saisonnalité, déjà observée au cours des années précédentes : 85.0% des cas sont diagnostiqués d'octobre à mai. La répartition géographique des cas de MGC (Figure 7) montrait une prédominance des cas dans l'ouest de la France. La région Nouvelle Aquitaine arrivait en tête avec 35.7%, suivie par les régions Bretagne (19.0%) et PACA (14.3%). Il est à noter que la Nouvelle Aquitaine est, année après année, la première région en nombre de cas de MGC.

Figure 6. Répartition temporelle des cas de maladies des griffes du chat en 2023, par mois de diagnostic

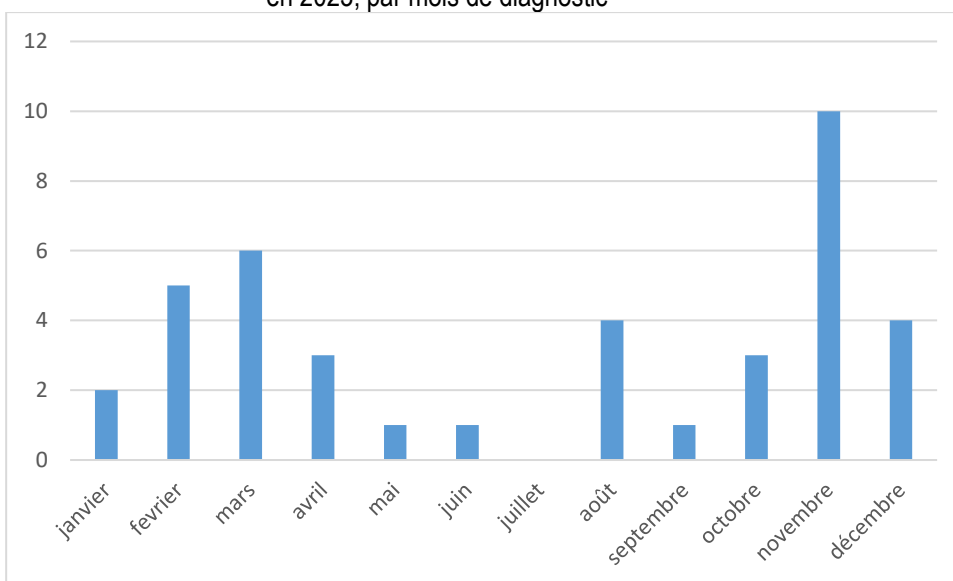
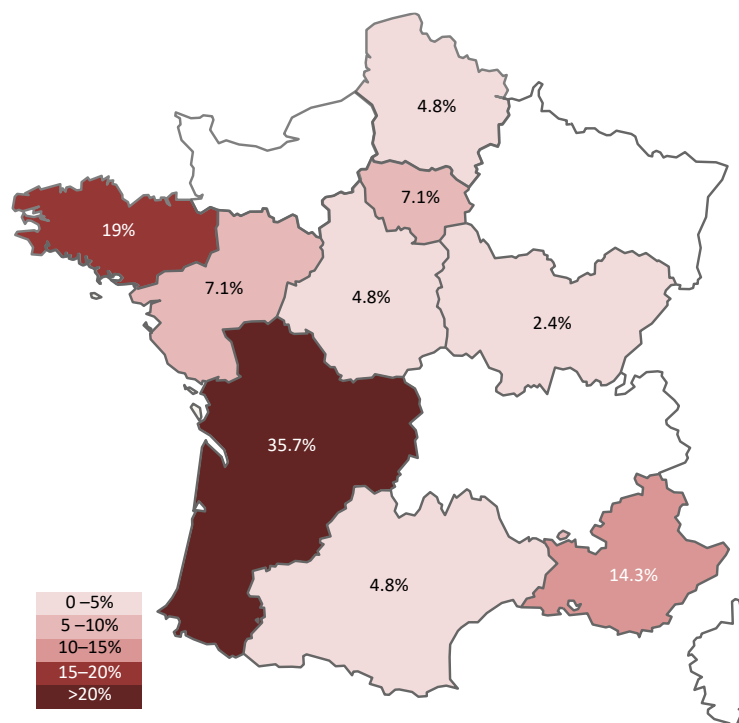


Figure 7. Répartition géographique des cas de maladie des griffes du chat diagnostiqués par le CNR en France en 2023



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 et à *B. quintana* chez **5** patients.

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

infection			Nombre de cas	Sex ration H/F	Age moyen, déviati on standard	Région d'origine
Endocardite <i>henselae</i>	à	<i>B.</i>	14	12/2	55.0+/- 23.9	Auvergne-Rhône-Alpes, Bourgogne-Franche-Comté, Centre-Val-de-Loire, Hauts de France, Ile de France, Nouvelle Aquitaine, PACA, Nouvelle Calédonie, Grande-Bretagne
Endocardite <i>quintana</i>	à	<i>B.</i>	5	3/2	29.0+/- 4.7	Auvergne-Rhône-Alpes, Centre-Val de Loire, Grand Est, Ile de France, Mayotte, Grande Bretagne

F. Données bartonelloses 2023 du PMSI

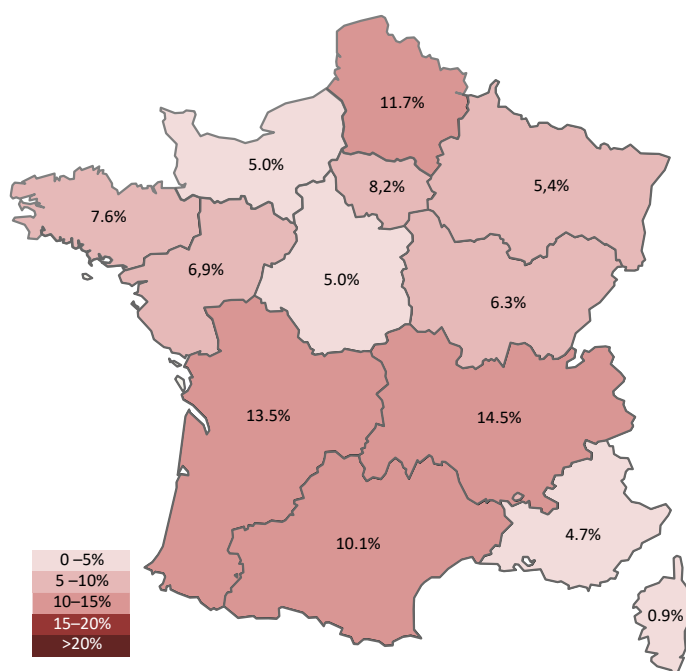
Pour la première fois, les données bartonella du PMSI ont été extraites et analysées. Le code A44 (bartonellose) ont été utilisé et a permis de détecter **483** patients ayant bénéficié d'un séjour hospitalier (y compris en

consultation). Ce nombre est plus de 7 fois supérieur à celui des diagnostics obtenus par le CNR (65). En utilisant le code A281 « maladie des griffes du chat », qui est la cause la plus fréquente d'adénopathie bénigne, il a été possible d'identifier 317 cas de maladies des griffes du chat dans le PMSI. Ces 317 cas se répartissent sur l'ensemble du territoire métropolitain, à la différence des prélèvements analysés par le CNR (Figure 8). De plus, 6 cas ont été répertoriés dans les DOM-TOM.

En croisant les codes A44 (*Bartonella*) et I330, I339, I390, I1391, I1392, I1393, I1394, I1398 (endocardite), 47 patients ont été identifiés. Toutefois, il n'est pas clair s'il s'agit exclusivement de nouveaux cas d'endocardites à *Bartonella* diagnostiqués en 2023 ou s'il s'agit d'un mélange de nouveaux patients et de patients diagnostiqués précédemment et faisant l'objet d'un suivi post-thérapeutique.

En conclusion, les données du CNR sous-estiment considérablement l'incidence de la maladie des griffes du chat, maladie d'évolution le plus souvent spontanément résolutive et répartie sur l'ensemble du territoire métropolitain ainsi que dans les DOM-TOM, et pour laquelle la plupart des centres hospitaliers et groupements de laboratoires privés disposent de moyens diagnostiques spécifiques.

Figure 8. Répartition géographique des cas de maladie des griffes du chat extraits du PMSI en 2023



3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

Les bactéries des genres *Rickettsia* et *Bartonella*, soumises à peu de pression de sélection, n'ont pas développé de résistance aux anti-infectieux. En revanche, la description dans la littérature scientifique de quelques souches de *Coxiella burnetii* de sensibilité diminuée à la doxycycline a motivé la recherche systématique des mutations décrites par le séquençage du génome complet de toutes les souches cultivées, et par PCR-séquençage ciblé des

souches des patients pour lesquels la souche n'est pas cultivée et la maladie semble échapper au traitement. De plus, la détermination de la CMI des souches cultivées à la doxycycline et des dosages sériques réguliers de taux de doxycycline sont réalisés chez les patients suivis et traités. Une méthode d'évaluation de la sensibilité des souches de *Coxiella burnetii* à l'hydroxychloroquine a été mise au point par le CNR en 2017. Toutefois, cette méthode étant lente et fastidieuse, en 2024, le CNR a débuté la mise au point d'une méthode d'évaluation de la sensibilité des souches de *Coxiella burnetii* à la doxycycline par microscopie électronique à balayage dans le cadre d'une collaboration avec la société Hitachi. Cette méthode est basée sur une culture axénique des souches, et fait l'objet du développement d'un système de reconnaissance d'image par intelligence artificielle.

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

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 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

En 2023, le CNR a détecté deux cas groupés de fièvre Q et prévenu les autorités sanitaires, en particulier Santé Publique France (voir ci-dessous).

En 2023, le CNR a participé à la mise à jour de la fiche CERFA de déclaration obligatoire du typhus exanthématique (typhus épidémique), numéro 12212.

Le cas groupé de fièvre Q en lien avec un élevage ovin de Pertuis (voir paragraphe 4 ci-dessous) a conduit le Directeur Général de la Santé à saisir le Haut Comité de la Santé Publique le 28 juillet 2023 afin de produire des recommandations sur la sécurisation des éléments et produits du corps humain en cas d'épidémie de fièvre Q (https://www.google.fr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwil8pbi7PmEAXVNBfsDHbJyAhEQFnoECCIQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.hcsp.fr%2FExplore.cgi%2FTelecharger%3FNomFichier%3Dhcspn20230816_fivqdanlevauscudesproissducorhum.pdf&usq=AOvVaw3CRYKAcUu9qnr4j5npUR_A&opi=89978449).

Le CNR a participé à ce groupe de travail.

4. Alertes

En 2023, le CNR a participé à l'investigation de 2 situations de cas groupés de fièvre Q en juillet 2023, en contact avec Santé Publique France.

Le premier cas groupé est survenu à Saint-Mitre-les-Remparts (Bouches-du-Rhône). Le Dr Marie Hocquart, infectiologue à l'hôpital de Martigues, a prévenu le CNR de 2 cas de fièvre Q aigüe chez des patients habitant le même quartier de Saint-Mitre-les-Remparts, à proximité d'une ferme (ferme du Crépon) qui pratique l'élevage ovin et caprin. Les deux patientes ont développé une hépatite fébrile et ont guéri sous doxycycline. La Direction Générale de l'Alimentation a été prévenue par Santé Publique France de ce cas groupé mais nous ne savons pas si une investigation a été conduite dans la ferme.

Le second cas groupé a impliqué 3 adultes ayant un lien avec une ferme d'élevage d'ovins à proximité de Pertuis (Vaucluse). En juillet 2023, le CNR a informé Santé Publique France de la survenue de 2 cas de fièvre Q aigüe chez des adultes ayant travaillé bénévolement dans un élevage ovin de Pertuis. Il s'agissait d'hommes de 31 et 35 ans ayant développé à partir des 12 et 18 juin 2023 une pneumonie. L'investigation de ces cas a permis d'identifier une troisième patiente, également employée de cette ferme, qui avait été hospitalisée en octobre 2022 pour une pneumonie, à l'époque séronégative pour la fièvre Q, et qui a fait une fausse-couche le 2 juillet 2023 à 10 semaines d'aménorrhée, potentiellement en lien avec la fièvre Q pour laquelle elle était alors séropositive. De plus, la ferme de Pertuis a fait l'objet d'une investigation impliquant Santé publique France, la DDPP84, l'INRAE, le LNR de la fièvre Q et la plateforme ESA (ANSES). Un fort taux de séroprévalence a été mis en évidence chez les ovins de l'élevage, et les prélèvements environnementaux ont également montré un fort taux de contamination par *Coxiella burnetii*. Une réflexion a été menée sur l'utilité de la vaccination préventive des animaux contre la fièvre Q dans ce contexte.

5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

L'IHU Méditerranée Infection organise chaque semaine un séminaire de microbiologie clinique au cours duquel les titulaires du CNR et les internes en formation présentent des cas cliniques et la bibliographie qui s'y rapporte. Ces séminaires sont ouverts aux professionnels de santé, hors CHU qui souhaitent y participer. Chaque semaine, deux réunions organisées les lundi et vendredi matin, avec l'ensemble des personnels concernés, permet de présenter tous les diagnostics faits par le CNR. A l'issue de cette réunion, les professionnels de santé ayant adressé des échantillons qui se sont révélés positifs sont informés par téléphone ou courriel. En 2023, le CNR a reçu 4 stagiaires venus se former aux techniques de sérologie et de diagnostic moléculaire en lien avec les thématiques du CNR. Tous les appels ou courriels sont réceptionnés par le secrétariat du CNR et redirigé vers les médecins seniors titulaires. En moyenne, le CNR reçoit chaque semaine, du lundi au vendredi, 10 appels et autant de courriels en lien avec ses thématiques de recherche.

Le CNR assure un contrôle de qualité sérologique pour la fièvre Q pour le laboratoire de microbiologie de l'hôpital Georges Pompidou. En 2024, ce contrôle de qualité sérologique sera élargi au laboratoire de microbiologie de l'hôpital Henri Mondor.

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

En 2023, comme mentionné au paragraphe 3.5, le CNR a participé à un groupe de travail du Haut Comité de la Santé Publique ayant conduit à la rédaction de recommandations sur la sécurisation des éléments et produits du corps humain en cas d'épidémie de fièvre Q

(https://www.google.fr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwil8pbi7PmEAXVNBfsDHbJyAhEQFnoECCIQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.hcsp.fr%2FExplore.cgi%2FTelecharger%3FNomFichier%3Dhcspn20230816_fivqdanlevauscudesproissducorhum.pdf&usg=AOvVaw3CRYKAcUu9gmr4j5npUR_A&opi=89978449).

De plus, le CNR a participé à la mise à jour de la fiche CERFA de déclaration obligatoire du typhus exanthématique (typhus épidémique), numéro 12212.

5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)

Le Site Internet du CNR, dont l'adresse est la suivante <https://www.mediterranee-infection.com/diagnostic/les-centres-nationaux-de-reference-cnr/cnr-rickettsioses/> 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 pour lesquelles nous sommes centre de référence. 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 au catalogue des souches détenues par le CNR.
- Aux rapports d'activités du CNR.

6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR

6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

6.1.1. Fièvre Q

Dans un modèle d'infection cellulaire in vitro, les chercheurs de l'IHU associés au CNR ont montré que *C. burnetii* module la voie de signalisation E-cadhérine/b-caténine et stimule la sécrétion d'E-cadhérine (20). La même équipe a montré que le génome de *C. burnetii* code une sheddase de 451 acides aminés de la famille HtrA, et que cette enzyme est active et peut cliver la E-cadhérine des monocytes THP1, induire leur polarisation M2 et la sécrétion d'IL-10, favorisant la réplication de la bactérie (19).

Au cours d'une enquête dans un foyer de SDF de Marseille, portant sur les infestations par punaises de lit, nous avons détecté des *Wolbachia* et *Coxiella burnetii* dans 81% et 0.5% des *Cimex lectularius* collectés, ce qui suggère que les punaises de lit pourraient jouer un rôle dans la transmission de la fièvre Q (11). Enfin, l'étude de la souche Cb122, une souche de *C. burnetii* isolée de placenta humain, possédait un système de sécrétion de type 1 présentait une virulence spécifiquement accrue pour ce tissu (24).

Une étude du rôle des tiques molles *Ornithodoros sonrai* dans les villages sénégalais des régions de Niakar et du Sine-Saloum a montré que *C. burnetii* était détectée dans 2% des tiques, contre 35, 28 et 26% pour les *Bartonella*, *Anaplasma* et *Borrelia*. Néanmoins, il est possible qu'*O. sonrai* joue un rôle dans l'épidémiologie de la fièvre Q en zone rurale au Sénégal (18).

En 2023, les chercheurs du CNR ont participé à l'investigation de la source de *Coxiella burnetii* dans quatre communes proches de Mireval dans l'Hérault, notamment par séquençage génomique de souches animales, ce qui a permis d'identifier un élevage ovin à l'origine d'infections humaines récurrentes, et d'identifier un nouveau génotype de *C. burnetii* (15).

Dans une étude conduite dans le nord de l'Algérie à la recherche des réservoirs de fièvre Q, nous avons montré la présence de *C. burnetii* dans 4.36 et 2.35 d'échantillons de sang et organes, respectivement, d'animaux (bovins, ovins, chiens et chats), et montré que le génotype MST 33 de la bactérie était présent chez les bovins et ovins, le MST 20 chez les bovins, et le MST 21 chez les chiens et chats (8).

Dans une étude conduite en zone rurale au nord du Sénégal, nous avons montré la présence de *C. burnetii* chez 22.4% des rongeurs vivant à proximité des habitations, et y avons décrit deux nouveaux génotypes (17).

Un rare cas d'infection de pontage fémoro-poplité diagnostiqué par TEP-scanner a montré l'utilité de cet examen d'imagerie pour les infections de prothèses vasculaires à *C. burnetii* (1).

Nous avons également conduit une étude rétrospective de 13 cas d'infections cardio-vasculaires à *C. burnetii* en collaboration avec l'hôpital européen Georges Pompidou. Cette étude a montré que le traitement de ces infections par doxycycline et hydroxychloroquine nécessite des dosages sériques réguliers et doit être d'au minimum 18 mois (22).

Enfin, nous avons décrit un cas d'accident d'exposition au sang survenu chez une infirmière de bloc opératoire qui s'est blessée au doigt lors du remplacement de la valve cardiaque aortique d'un patient atteint de fièvre Q, et a reçu un traitement prophylactique par doxycycline. Cet article a été l'occasion de revoir la littérature sur les cas de transmission inter-humaine de fièvre Q (6).

6.1.2. *Rickettsia*

Nous avons décrit un rare cas de SENLAT associé à une éruption cutanée, causé par *R. slovaca* (4).

Le rôle de *R. prowazekii* dans une épidémie de 28 cas de typhus épidémique survenue en 1810 dans le village de La Valentine, à proximité de Marseille, a fait l'objet d'une description historique (7).

Dans le cadre d'une collaboration de longue date avec le CNR des rickettsioses du Danemark, nous avons participé à une étude, à l'échelle du pays, de la prévalence de *R. helvetica* et *R. monacensis* dans les tiques, ainsi que de la séroprévalence chez l'homme et les cervidés des anticorps contre *R. helvetica*. Cette étude a permis de montrer l'absence d'anticorps contre cette rickettsie chez l'homme sauf chez les patients atteints de neuroborréliose (13).

Nous avons également écrit plusieurs revues, dont une sur le rôle du hérisson et des arthropodes (en particulier puces et tiques) qui le parasitent comme réservoir et vecteurs, respectivement, de nombreux microorganismes dont des espèces des genres *Anaplasma*, *Bartonella*, *Borrelia*, *Coxiella*, *Ehrlichia*, *Leptospira*, *Mycobacterium*, *Rickettsia* et *Wolbachia* (3) ; une sur les infections associées aux poux de corps humains en Afrique (21) ; et une revue sur les infections à *Rickettsia*, *Borrelia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Bartonella*, *Coxiella burnetii*, *Theileria*, *Babesia*, *Hepatozoon* et le virus Crimée-Congo en Afrique de l'ouest (5).

6.1.3. *Bartonella*

En 2023, le CNR a décrit avec les infectiologues du CHU de la Réunion 12 cas d'endocardites à *Bartonella quintana* diagnostiqués entre 2009 et 2021. Les patients avaient tous contracté l'infection dans l'archipel des Comores et un génotype unique de la bactérie, MST6, a été identifié. Cette étude a mis en évidence le rôle important de *B. quintana* comme agent d'endocardite dans les Comores (23).

En collaboration avec l'Institut Pasteur d'Athènes, nous avons revu la littérature (437 articles) sur l'utilité de la sérologie dans le diagnostic de la maladie des griffes du chat, la plus fréquente manifestation de bartonellose. Avec des sensibilités variant de 10 à 100% et des spécificités de 15 à 100%, les méthodes sérologiques sont insuffisantes pour

le diagnostic de cette maladie, pour laquelle la méthode de référence est la détection moléculaire de *B. henselae* dans les ganglions (14).

Nous avons montré le rôle des poux de tête dans la transmission de *B. quintana*, agent de la fièvre des tranchées, au Sénégal (9).

Une collaboration avec une équipe sénégalaise nous a permis de montrer la présence d'*Anaplasma*, *Bartonella*, *Borrelia* et *Piroplasma* dans 2 à 20% des gerbilles collectées dans la région de Ferlo. En outre, cette étude a permis d'identifier trois nouvelles espèces des genres *Anaplasma*, *Bartonella* et *Ehrlichia*, respectivement (16).

Une nouvelle espèce de *Bartonella*, *Bartonella raoultii* sp. nov., a été décrite dans le sang de souris *Mastomys erythroleucus* du Sénégal (10).

Dans une étude collaborative conduite avec des chercheurs vietnamiens et visant à identifier des puces préservées en alcool par spectrométrie de masse MALDI-TOF, nous avons montré la présence de *Bartonella clarridgeiae*, *B. rochalimae*, *B. coopersplainsensis*, et *Wolbachia* spp (12).

Une autre étude collaborative avec l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers a permis de montrer le risque sous-évalué que représentent les infections à *Bartonella quintana* en Afrique (2).

6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

- 1) Azouzi F, Olagne L, Edouard S, Camilleri S, Magnan PE, Fournier PE, Million M. *Coxiella burnetii* Femoro-Popliteal Bypass Infection: A Case Report. *Microorganisms*. 2023;11(9):2146. doi: 10.3390/microorganisms11092146. PMID: 37763990; PMCID: PMC10538191.
- 2) Boodman C, Fongwen N, Pecoraro AJ, Mihret A, Abayneh H, Fournier PE, Gupta N, van Griensven J. Hidden Burden of *Bartonella quintana* on the African Continent: Should the Bacterial Infection Be Considered a Neglected Tropical Disease? *Open Forum Infect Dis*. 2023;11:ofad672. doi:10.1093/ofid/ofad672. PMID: 38370291; PMCID: PMC10873695.
- 3) Benkacimi L, Diarra AZ, Bompar JM, Bérenger JM, Parola P. Microorganisms associated with hedgehog arthropods. *Parasit Vectors*. 2023 Jun 22;16(1):211. doi: 10.1186/s13071-023-05764-7. PMID: 37349802; PMCID: PMC10288713.
- 4) Del Giudice P, Reverte M, Boissy C, Fournier PE. *Rickettsia slovaca* "spotted fever". *JAAD Case Rep*. 2023 Jun 29;39:3-5. doi: 10.1016/j.jdc.2023.06.032. PMID: 37554360; PMCID: PMC10404600.
- 5) Diarra AZ, Kelly P, Davoust B, Parola P. Tick-Borne Diseases of Humans and Animals in West Africa. *Pathogens*. 2023 Oct 24;12(11):1276. doi: 10.3390/pathogens12111276. PMID: 38003741; PMCID: PMC10675719.
- 6) Diwunga P, Million M, Ravaux I, Fournier PE, Gautret P. Occupational exposure to *Coxiella burnetii* during cardiac surgery: A case report and review of the literature. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2024 Mar 11. doi:10.1556/030.2024.02240. PMID: 38466372.
- 7) Gautret P. La Valentine disease: An outbreak of exanthematic typhus in Marseille, France, in 1810. *J R Coll Physicians Edinb*. 2023 Dec;53(4):290-294. doi: 10.1177/14782715231210333. PMID: 37936398.
- 8) Ghaoui H, Bitam I, Zaidi S, Achour N, Zenia S, Idres T, Fournier PE. Molecular detection and MST genotyping of *Coxiella burnetii* in ruminants and stray dogs and cats in Northern Algeria. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2024;106:102126. doi: 10.1016/j.cimid.2024.102126. PMID:38325127.

- 9) Hammoud A, Louni M, Fenollar F, Bassene H, Sambou M, Duclos N, Diatta G, Sokhna C, Levasseur A, Raoult D, Mediannikov O. *Bartonella quintana* Transmitted by Head Lice: An Outbreak of Trench Fever in Senegal. *Clin Infect Dis*. 2023 Apr 17;76(8):1382-1390. doi: 10.1093/cid/ciac937. PMID: 36571112.
- 10) Hammoud A, Medkour H, Zgheib R, Louni M, Diatta G, Bassene H, Sambou M, Gaye M, Haddad G, Fenollar F, Sokhna C, Mediannikov O. *Bartonella raoultii* sp. nov., isolated from infected rodents (*Mastomys erythroleucus*) in Senegal. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2023 Aug;73(8). doi: 10.1099/ijsem.0.005888. PMID: 37578895.
- 11) Hasnaoui B, Bérenger JM, Delaunay P, Diarra AZ, Ndiaye EHI, M'madi SA, Masotti N, Sevestre J, Parola P. Survey of bed bug infestations in homeless shelters in southern France. *Sci Rep*. 2023 Aug 2;13(1):12557. doi: 10.1038/s41598-023-38458-2. PMID: 37532686; PMCID: PMC10397270.
- 12) Huynh LN, Diarra AZ, Pham QL, Berenger JM, Ho VH, Nguyen XQ, Parola P. Identification of Vietnamese Flea Species and Their Associated Microorganisms Using Morphological, Molecular, and Protein Profiling. *Microorganisms*. 2023 Mar 9;11(3):716. doi: 10.3390/microorganisms11030716. PMID: 36985289; PMCID: PMC10055665.
- 13) Jensen BB, Andersen NS, Wölfel S, Chen M, Paarup HM, Olesen CR, Fournier PE, Jensen PM, Skarphedinsson S. Rickettsiosis in Denmark: A nation-wide survey. *Ticks Tick Borne Dis*. 2023 Nov;14(6):102236. doi: 10.1016/j.ttbdis.2023.102236. Epub 2023 Sep 12. PMID: 37708802.
- 14) Koutantou M, Kambas K, Makka S, Fournier PE, Raoult D, Angelakis E. Limitations of Serological Diagnosis of Typical Cat Scratch Disease and Recommendations for the Diagnostic Procedure. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2023 Mar 4;2023:4222511. doi: 10.1155/2023/4222511. PMID: 36915870; PMCID: PMC10008113.
- 15) Laidoudi Y, Rousset E, Dessimoulie AS, Prigent M, Raptopoulou A, Huteau Q, Chabbert E, Navarro C, Fournier PE, Davoust B. Tracking the Source of Human Q Fever from a Southern French Village: Sentinel Animals and Environmental Reservoir. *Microorganisms*. 2023;11:1016. doi:10.3390/microorganisms11041016. PMID: 37110439; PMCID: PMC10142994.
- 16) Mangombi-Pambou JB, Granjon L, Fliriden F, Kane M, Niang Y, Davoust B, Fenollar F, Mediannikov O. Molecular Survey of Rodent-Borne Infectious Agents in the Ferlo Region, Senegal. *Genes (Basel)*. 2023 May 18;14(5):1107. doi: 10.3390/genes14051107. PMID: 37239466; PMCID: PMC10218615.
- 17) Mangombi-Pambou J, Granjon L, Labarrere C, Kane M, Niang Y, Fournier PE, Delerce J, Fenollar F, Mediannikov O. New Genotype of *Coxiella burnetii* Causing Epizootic Q Fever Outbreak in Rodents, Northern Senegal. *Emerg Infect Dis*. 2023;29:1078-1081. doi: 10.3201/eid2905.221034. PMID: 37081672; PMCID: PMC10124644.
- 18) Ndiaye EHI, Diarra AZ, Diouf FS, Bouganali C, Almeras L, Sokhna C, Diatta G, Parola P. *Ornithodoros sonrai* Soft Ticks and Associated Bacteria in Senegal. *Pathogens*. 2023 Aug 24;12(9):1078. doi: 10.3390/pathogens12091078. PMID: 37764886; PMCID: PMC10534570.
- 19) Osman IO, Caputo A, Pinault L, Mege JL, Levasseur A, Devaux CA. Identification and Characterization of an HtrA Sheddase Produced by *Coxiella burnetii*. *Int J Mol Sci*. 2023 Jun 30;24(13):10904. doi: 10.3390/ijms241310904. PMID: 37446087; PMCID: PMC10342153.
- 20) Osman IO, Mezouar S, Brahim-Belhaouari D, Mege JL, Devaux CA. Modulation of the E-cadherin in human cells infected in vitro with *Coxiella burnetii*. *PLoS One*. 2023;18(6):e0285577. doi: 10.1371/journal.pone.0285577. PMID:37285354; PMCID: PMC10246793.
- 21) Ouarti B, Mbogning Fonkou DM, Houhamdi L, Mediannikov O, Parola P. Lice and lice-borne diseases in humans in Africa: A narrative review. *Acta Trop*. 2023 Jan;237:106709. doi: 10.1016/j.actatropica.2022.106709. Epub 2022 Oct 2. PMID: 36198330.
- 22) Sabourin E, Podglajen I, Fournier PE, Mainardi JL. Clinical and biological diagnosis and follow-up of patients treated for endovascular infections due to *Coxiella burnetii*. *J Infect Chemother*. 2023;29:371-374. doi:10.1016/j.jiac.2022.12.013. Epub 2022 Dec 28. PMID: 36584815.
- 23) Sarsiat L, Garrigos T, Houhamdi L, Dauwalder O, Kuli B, Braunberger E, Belmonte O, Fournier PE, Miltgen G. Case series of 12 *Bartonella quintana* endocarditis from the Southwest Indian Ocean. *PLoS Negl Trop Dis*. 2023 Sep 7;17(9):e0011606. doi: 10.1371/journal.pntd.0011606. PMID: 37676863; PMCID: PMC10508605.

- 24) Zarza SM, Militello M, Gay L, Levasseur A, Lepidi H, Bechah Y, Mezouar S, Mege JL. Infection and Persistence of *Coxiella burnetii* Clinical Isolate in the Placental Environment. Int J Mol Sci. 2023 Jan 7;24(2):1209. doi: 10.3390/ijms24021209. PMID: 36674725; PMCID: PMC9866107.

6.2.4. Communications dans les congrès internationaux :

Investigacion en enfermedades Infecciosas : Desafios des siglo XX1, Bogota, Colombie, 27 novembre 2023.
Sevestre J. « Enfermedades bacterianas transmitidas por artropodos ».

6.2.5. Communications dans les congrès nationaux

Séminaires de la Société Française de Microbiologie. En ligne, 9 février 2023. Fournier PE. La fièvre Q.

7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux

Le CNR des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* a signé avec le 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, une convention de collaboration scientifique. 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 de longue durée sur l'étude génomique comparée des souches humaines et animales de *Coxiella burnetii*. L'analyse pangénomique de *Coxiella burnetii* débutée en 2017 et ayant fait l'objet d'un article publié en 2022 (Abou Abdallah R, *et al.* Pangenomic analysis of *Coxiella burnetii* unveils new traits in genome architecture. *Front Microbiol.* 2022;13:1022356), se poursuit. Le CNR participe notamment aux activités de séquençage et d'analyse génomique des souches environnementales de *Coxiella burnetii* dans le cadre du projet européen ICRAD Q-Net-Asses dans lequel est engagé le LNR.

Par ailleurs, le CNR collabore avec le Dr Elsa JOURDAIN (INRA) au travers du projet Expaircox visant à étudier la séroprévalence des anticorps contre *Coxiella burnetii* des donneurs de sang de la région de Niort, où la fièvre Q présente une incidence élevée. Après l'étude de 2021 portant sur 2500 dons de sangs prélevés par l'établissement français du sang de Niort entre mai et décembre 2017, une seconde étude est en cours sur le risque de transmission de la fièvre Q par les dons de sang dans le département des Pyrénées Atlantiques.

8. Programme d'activité pour les années suivantes

8.1. Démarche qualité

Le CNR s'est doté d'un guide de bonne exécution des analyses (GBEA) pour toutes les activités de culture, sérologie et détection moléculaire 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 depuis 2014. Ces activités ont fait l'objet de renouvellements d'accréditation en 2018, 2020 et 2022.

8.2. Activité de recherche en 2024

Le CNR a débuté en 2024 un projet de développement d'une méthode rapide d'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux des souches de *Coxiella burnetii* par microscopie électronique à balayage couplée à une analyse d'images par intelligence artificielle.

Le CNR poursuivra sa collaboration scientifique avec le LNR de la fièvre Q sur l'analyse pangénomique de *Coxiella burnetii* en mettant l'accent sur la comparaison entre souches humaines et souches animales.

Le CNR poursuivra aussi les analyses pangénomiques des bactéries des genres *Rickettsia* et *Bartonella*.

L'étude ExpairCox sera poursuivie en 2024.

8.3. Activité d'expertise

En 2024, le CNR poursuivra l'évaluation du kit VIRCELL *Bartonella henselae* & *quintana* IFA IgG débutée en 2023.

1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

Le Centre National de Référence des Rickettsies, Coxiella et Bartonella (CNR), créé en 1985, a vu son agrément renouvelé par le ministère de la Santé pour la période du 1er janvier 2023 au 31 décembre 2027 (JORF n°0303 du 31-12-2022, texte n°174). Le CNR reçoit plus de 20000 prélèvements (sérum, 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.

1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

Enseignants chercheurs et chercheurs

Nom Prénom	Fonction	Corps-grade	Tutelle	
FENOLLAR Florence	Enseignant-Chercheur	PU-PH	AMU/AP-HM	Responsable adjoint
FOURNIER Pierre-Edouard	Enseignant-Chercheur	PU-PH	AMU/AP-HM	Responsable
EDOUARD Sophie	Enseignant-Chercheur	MCU-PH	AMU/AP-HM	
LA SCOLA Bernard	Enseignant-Chercheur	PU-PH	AMU/AP-HM	
LEPIDI Hubert	Enseignant-Chercheur	PU-PH	AMU/AP-HM	
LEVASSEUR Anthony	Enseignant-Chercheur	PU	AMU	
MILLION Matthieu	Enseignant-Chercheur	PU-PH	AMU/AP-HM	
PAROLA Philippe	Enseignant-Chercheur	PU-PH	AMU/AP-HM	
SEVESTRE Jacques	Enseignant-Chercheur	AHU	AMU/AP-HM	

AMU : Aix-Marseille Université ; AP-HM : Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille ;

Ingénieurs et équipes techniques

NOM Prénom	Tutelles	Fonction
ANDRIEU Claudia	CHU MARSEILLE - APMH	Ingénieure Rech Plateforme génomique
AMPHOUX Bernard	CHU MARSEILLE - APMH	Technicien Sérologie
ARMSTRONG Nicholas	CHU MARSEILLE - APMH	Ing Etude en Protéomique
BANCOD Audrey	AMU CDD	Technicienne fonctionnement NSB3
BERENGER Jean-Michel	CHU MARSEILLE - APMH	Technicien animalerie - insectarium
BEYE Mamadou	CHU MARSEILLE - APMH	Ingénieur étude bioinformatique
BEZINGER Sandy	CHU MARSEILLE - APMH	Technicienne Sérologie
BOSSI Vincent	CHU MARSEILLE - APMH	Technicien plateforme génomique
BOU KHALIL Jacques	FMI	Ing Recherche en Microscopie et Cytométrie
BROSSARD Catherine	CHU MARSEILLE - APMH	Technicienne Sérologie
CAPUTO Aurélie	CHU MARSEILLE - APMH	Ingénieure Rech en Bioinformatique
CHANTELOUP Alice	CHU MARSEILLE - APMH	Technicienne cultures cellulaires NSB3
COUDERC Carine	CHU MARSEILLE - APMH	Ing Etude en Protéomique
DECLOQUEMENT Philippe	CHU MARSEILLE - APMH	Ing Rech en Protéomique
DELERCE Jérémie	CHU MARSEILLE - APMH	Ingénieur Rech en Bioinformatique
DIARRA Adama Zan	IRD	Ing Recherche Plateforme animalerie/insectarium
DI PINTO Fabrizio	CHU MARSEILLE - APMH	Ingénieur en microscopie électronique
DUCLOS Nathalie	CHU MARSEILLE - APMH	Technicienne cultures cellulaires NSB3
DUFAU Marion	AMU CDD	Technicienne plateforme NSB3
GRIMALDIER Clio	CHU MARSEILLE - APMH	Technicienne cultures cellulaires NSB3
KACEL Idir	CHU MARSEILLE - APMH	Technicien plateforme génomique
LE MOINE Johanna	AMU CDD	Technicienne fonctionnement NSB3
MARTINEZ Aurélie	CHU MARSEILLE - APMH	Technicienne Sérologie
MASOTTI/ FAVRE Noëlle	AMU	Technicienne animalerie - insectarium
MATI Marie-Charlotte	CHU MARSEILLE - APMH	Technicienne cultures cellulaires NSB3
MILITELLO Muriel	AMU	Ing Etude en Techniques Biologiques NSB2/NSB3
POCACHARD Bérangère	CHU MARSEILLE - APMH	Ingénieure Qualité
PRACHE Margot	CHU MARSEILLE - APMH	Technicienne Sérologie
PRUDENT Elsa	CHU MARSEILLE - APMH	Ingénieure plateforme
ROBINE Simon	CHU MARSEILLE - APMH	Ing Etude en Protéomique
SALACHA Richard	CHU MARSEILLE - APMH	Ingénieur Qualité
SAMY Emma	CHU MARSEILLE - APMH	Technicienne Sérologie
SEGALAS Samantha	CHU MARSEILLE - APMH	Technicienne Sérologie
WURTZ Nathalie	AMU	Ingénieure Responsable laboratoire NSB3

AMU : Aix-Marseille Université ; FMI : Fondation Méditerranée Infection ; AP-HM : Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille ;
IRD : Institut de Recherche pour le Développement

Equipes administratives

NOM Prénom	Tutelles	Fonction
BARRACO Priscilla	CHU MARSEILLE - APMH	Secrétaire
COMBE Isabelle	AMU	Cadre administrative recherche
JOUINI Manel	IRD	Cadre gestionnaire recherche
TIFOUR Sarah	CHU MARSEILLE - APMH	Secrétaire
THOMAS Laurence	CHU MARSEILLE - APMH	Cadre Médico Technique
TUSA Marie	CHU MARSEILLE - APMH	Secrétaire

1.3 Locaux et équipements



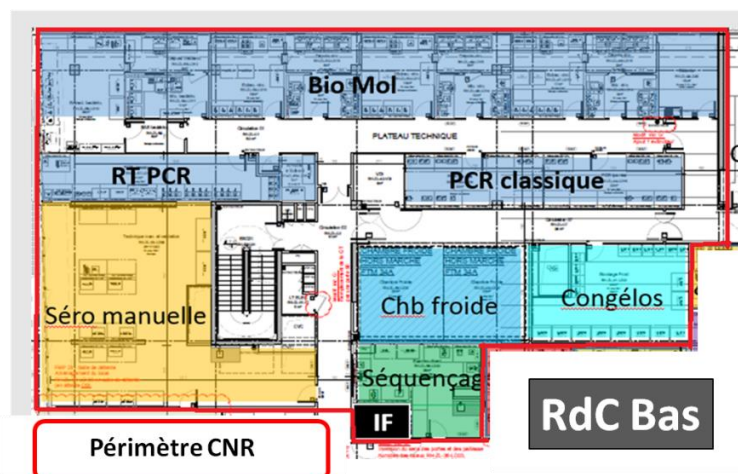
Depuis janvier 2017, le CNR des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* est localisé dans les locaux de l'Institut Hospitalo-Universitaire (IHU) Méditerranée-Infection. Cet institut dédié à la prise en charge et à l'étude des maladies infectieuses comporte :

- 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.
- Quatre unités mixtes de recherche : UMR **MEPHI D-258** (Microbes Evolution Phylogénie et Infections), UMR **VITROME D-257** (Vecteurs – Infections Tropicales et Méditerranéennes), UMR **UVE D-190** (Unité des Virus Emergents), et UMR **1252-SESSTIM** (Sciences Economiques et Sociales de la Santé et Traitement de l'Information Médicale).
- 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.
- Les CNR des Arbovirus (Pr Xavier de Lamballerie), CNR Paludisme (Dr Bruno Pradines) et le CNR des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* (Pr Pierre-Edouard Fournier).
- Le Centre de Référence pour la prise en charge des Maladies Vectorielles à Tiques de la Région Sud (CRMVT Sud), créé en 2020 (Pr Philippe Parola, Dr Jacques Sevestre).
- Le CRATb : Centre Régional d'Antibiothérapie créé en 2021 (Pr Florence Fenollar, Pr Philippe Brouqui).

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).

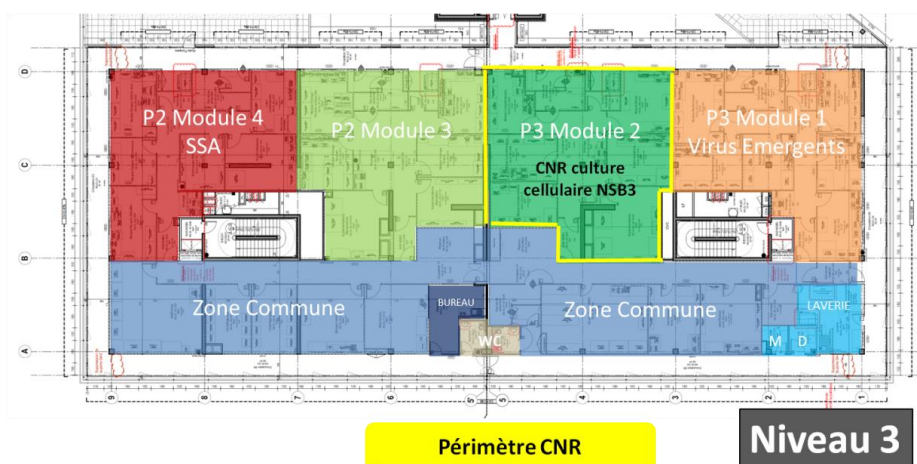
1.3.1. Les activités de sérologie et détection moléculaire du CNR (responsables PE. Fournier et F. Fenollar)

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).



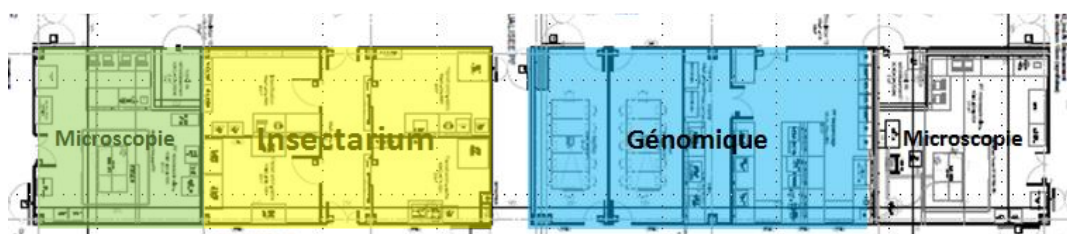
1.3.2. Les activités de culture du CNR (responsable B. La Scola)

Les activités de culture du CNR sont réalisées dans le module 2 du laboratoire de niveau de sécurité biologique 3 (NSB3, troisième étage).



1.3.3. Les plateformes techniques de l'IHU auxquelles le CNR a accès

Les membres du CNR ont accès aux plateformes de microscopie électronique, génomique, et à l'insectarium de l'IHU (deuxième étage).



A. Insectarium (Responsables : Philippe Parola PU-PH et Adama Zan Diarra, Ingénieur de recherche)

Depuis l'année 2011, l'IHU Méditerranée Infection dispose d'un insectarium dans lequel des élevages d'arthropodes (tiques poux, puces, moustiques, punaises et triatomes) et des programmes de recherche sur les interactions

"arthropodes – microorganismes" sont organisés. En 2020, un Ingénieur de recherche de l'IRD, M Adama Zan Diarra, a été recruté pour superviser la plateforme.

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. Plateforme microscopie pour l'étude morphologique et fonctionnelle des cellules, cytométrie (Responsable : Jacques Bou Khalil, Ingénieur de recherche)

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.

C. Plateforme Génomique (Responsable : Pierre-Edouard Fournier, PU-PH et Claudia Andrieu ingénieur de recherche)

La plateforme est spécialisée dans le séquençage des génomes de bactéries intra-cellulaires et de virus. En 2022, 59048 génomes microbiens ont été séquencés par la plateforme dont 52072 génomes de SARS-CoV-2 dans le cadre de sa participation au consortium EMERGEN en tant que laboratoire expert associé au CNR des virus respiratoires. En outre, 26 souches de *Coxiella burnetii*, 24 souches de *Rickettsia* et 10 souches de *Bartonella* ont fait l'objet d'un séquençage génomique.

D. Plateforme Bioinformatique (Responsable : Anthony Levasseur, PU)

Depuis juin 2006, le CNR a constitué une plateforme de bioinformatique, composée de 4 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 :

1- 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.

2- 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, ...).

3- 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 du CNR dans une réunion hebdomadaire de génomique et la valorisation de ces résultats par la

participation aux publications (voir publications).

1.3.4. Les principaux équipements

1. Sérologie

- 1 étuve ThermoScientific (Aerus)
- 1 congélateur antigènes -80°C
- 20 congélateurs sérums -80°C
- 1 réfrigérateur
- 3 ordinateurs
- 1 imprimante en réseau
- Un spotter d'antigènes pour la préparation des lames de sérologie
- Un automate à Western blot Jess (Protein Simple, San Jose, CA, USA)
- 2 microscopes à fluorescence (Zeiss)
- 1 microscope à fluorescence (Olympus)

2. Biologie moléculaire – séquençage génomique

- 4 séquenceurs à haut débit MiSeq (Illumina)
- 1 séquenceur à haut débit Novaseq (Illumina)
- 2 séquenceurs à haut débit GridION (Oxford Nanopore)
- 1 séquenceur à haut débit PromethION (Oxford Nanopore)
- 2 préparateurs de banque de séquençage Dreamprep (Tecan)
- 2 séquenceurs 3500XL (Applied Biosystem)
- 10 Thermocyclers conventionnels (Applied biosystems, Eppendorf, Biometra)
- 10 thermocycleurs en temps réel LC480 (Roche)
- 10 extracteurs d'ADN EZ-One (QIAGEN)
- 5 broyeurs Fastprep
- 1 bain sec
- 1 Hydroshear (GeneMachines)
- 7 hottes BIOCAP DNA (Bioblock)
- 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)
- 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. Microscopie

- 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)
- Microscope électronique à balayage TM4000+ (Hitachi)
- Microscope électronique à balayage SUV5000 (Hitachi)

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)
- Spectromètre de masse MALDI-TOF Microflex (Bruker Daltonics)
- 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)

6. 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. Vingt imprimantes laser-réseau sont réparties sur tout le laboratoire.

Les séquenceurs disposent chacun d'un ordinateur et d'une imprimante couleur, les thermocycleurs LC480 sont chacun équipés d'un ordinateur.

Les bio informaticiens disposent de 8 stations de travail très haute performance (multicœur, 12 Go de Ram minimum).

1 serveur de sauvegarde est à disposition sur le réseau, d'une capacité de 15 To, chaque utilisateur a 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 Collections de matériel biologique

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., *Coxiella burnetii*, ehrlichiae.

A ce jour, plus de 15000 souches bactériennes sont conservées. L'importance de cette collection, la Collection de Souches de l'Unité des Rickettsies: (CSUR, WDCM 875, <https://www.mediterranee-infection.com/diagnostic/collection-de-souches/>) est d'autant plus grande que la majorité de ces souches est unique.

Cette collection conserve actuellement 665 souches de *Bartonella*, 236 souches de *Rickettsia* et 398 souches de *Coxiella burnetii*, constituant les plus grandes collections mondiales de souches de 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, dont des pathogènes humains (*R. heilongjiangensis*, *R. raoultii*) ont été décrites par le CNR. La pérennisation de cette collection est donc particulièrement cruciale.

1.4.1. 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.

B. Objectifs

L'Institut Hospitalo-Universitaire Méditerranée-Infection s'est doté en 2018 d'une biobanque automatisée permettant de stocker 1 million d'échantillons et souches à -80°C et 2 millions à -20°C. La biobanque automatisée a été mise en fonction en 2020. Les souches sont 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 l'IHU. De plus, les tubes dans lesquels sont conservées les souches seront 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, 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 est dédiée à la biobanque robotisée au sous-sol de l'IHU.

1.4.2. 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 de souches de l'Unité des Rickettsies (CSUR) est riche de plus de mille souches de bactéries intracellulaires. Deux techniciens, MM. Amael Fadlane et Stéphane Alibar, sont responsables de l'entretien du souchier, sous la responsabilité du Pr Fournier. La CSUR a accès au laboratoire de niveau de sécurité biologique 3 de l'IHU. Le Pr La Scola est habilité à la détention des souches bactériennes faisant l'objet d'une surveillance particulière (MOT) : *R. prowazekii* et *R. rickettsii* sous les références ADE-083212017-7 et ADE-083222017-8, respectivement).

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

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 (<https://www.mediterranee-infection.com/diagnostic/collection-de-souches/>).

La CSUR est l'une des rares collections dans le monde avec l'American Type Culture Collection et la DSMZ qui accepte les bactéries intracellulaires strictes. Actuellement, **236 souches de *Rickettsia*, 398 souches de *Coxiella burnetii* et 665 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**. 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*. 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>florenciae</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>	433
	<i>raoultii</i>	1
	<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>	398
<u><i>Rickettsia</i></u>	<i>aeschlimannii</i>	7
	<i>africae</i>	36
	<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>	90
	<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>	8
	<i>montanensis</i>	1
	<i>parkeri</i>	2
	<i>raoultii</i>	8
	<i>rhhipicephali</i>	1
	<i>sibirica</i>	16
	<i>slovaca</i>	36
	<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
Directeur
IHU Méditerranée-Infection

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	1	750.00
1				1	
2				1	
Total:					

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

CSUR

Collection de Souches de l'Unité des Rickettsies
WDCM 875

Professeur Pierre-Edouard FOURNIER
Directeur

IHU Méditerranée-Infection

+

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) 4 13 73 24 02) or email the order form (pierre-edouard.fournier@univ-amu.fr)

1.5 Démarche qualité du laboratoire

Le CNR s'est doté d'un guide de bonne exécution des analyses (GBEA) pour toutes les activités de culture, de sérologie et de détection moléculaire du laboratoire. Au cours de l'année 2014, 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. Ces activités ont fait l'objet de renouvellements d'accréditation en 2018, 2020 et 2022.

2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

2.1 Liste des techniques de référence

2.1.1. La 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 2012) sous la référence 8-3446. Ces activités ont fait l'objet du 09 au 12 octobre 2018 d'une visite des experts COFRAC (rapport d'activités SH-10-0469-1 v00).

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 persistante et focalisée.

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 IgM pour le diagnostic d'endocardite.

Le laboratoire possède une collection importante d'antigènes originaires de tous les continents, ce qui permet d'adapter les panels 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 Kawazaki 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 est 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.

2.1.2. 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 LC480 (Roche Diagnostics, Meylan, France). 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 la détection moléculaire des *Rickettsia* 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 CIBLE	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	TGAATATATCTTCTCTTCACAATTTT	26		
		Barto ITS2 P	6FAM- CGATCCCGCTCCGGCTCCACCA	21		
Bartonella henselae	PAP	PAP 246F	TATGCCTTATGTGTGCTGGTGGT	22		151 pdb
		PAP 396R	ACCACGCCCAAGAGTGAAAC	20		
		PAP246/396_MBP	6FAM- CAAGCAGCAGATGATGCAGAAATCGC	26		
		PAP 246F/396R ancienne souche	6FAM- CTGTCAGTTCTACTAAGGTAA			
	GROEL	GROEL 493F	GGTGCTGGACAAAAGAGCGA	20		151 pdb
		GROEL 643R	TTGCTCCACCAACACGGATA	20		
		GROEL P 493F/643R	6FAM- AATTGCAAGAAAGACTTGCT	20		
Bartonella quintana	yopP	B qui 11580F	TAAACCTCGGGGAAGCAGA	20		134 pdb
		B qui 11580R	TTTCGTCTCAACCCATCA	20		
		B qui 11580P	6FAM- CGTTGCCGACAAGACGTCCTTGC	23		
	fabF3	B qui 05300F	GCTGGCCTTGCTCTTGATGA	20		139 pdb
		B qui 05300R	GCTACTCTGCGTGCCTTGGA	20		
		B qui 05300P	6FAM- TGCAGCAGGTGGAGGAGAACGTG	23		
COXIELLA						
Coxiella burnetii	hypothetical p.	IS30a 3F	CGCTGACCTACAGAAATATGTCC	23		164 pdb
		IS30a 3R	GGGGTAAGTAAATAATACCTTCTGG	25		
		IS30a F3-R3 P	6FAM- CATGAAGCGATTATCAATACGTGATGC	29		
	IS1111A	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	TTTGATTGCGGGTCGAAAAA	20		121 pdb
		A_pha0001R	AACGCTTCAACAGCCTCACG	20		
		A_pha0001P	6FAM- TCGCCCTAAAGCACAGAGGATCTG	25		
	gatA	A_pha0748F	CGCACTACCGCATGCTCTG	19		129 pdb
		A_pha0748R	AGCCCATGGCAAATTCATCC	20		
		A_pha0748P	6FAM- TGCTTGCAATGAGGAAATTGAACA	26		
	orf 1395	A_pha1395F	CAGAAGAACCAGCGGATA	20		138 pdb
		A_pha1395R	TCGACGTAGGTGAGCTGCAA	20		
		A_pha1395P	6FAM- TGACCAAAGATGCACATGGTGACA	25		
Ehrlichia canis	taredoxin related	E_can0701F	TGAGGCCATTAAAGAATTCACAA	23		113 pdb
		E_can0701R	TGAAGCTCTCCACTGTGGTACATT	25		
		E_can0701P	6FAM- AGGTGAGTTTATTGGTGCGACA	23		
	hyp. p.	E_can0503F	CAGCAAAATCCAAATCTGCATTC	23		146 pdb
		E_can0503R	GAGCTTCCAATTGATGGGTCG	22		
		E_can0503P	6FAM- TGTTATCTAATGCAAAAATCCCCGGCA	27		
Neorickettsia sennetsu	gltA	gltA sennetsu F	GGCTACAGCTAGTTTATGGGG	21		166 pdb
		gltA sennetsu R	AGTTTTTATACACCCCTGTGCC	22		
		gltA sennetsu	6FAM- GCGCGTTAAAAGAAAAGAGAGAGAC	26		

2.1.3. 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. Les techniciens y 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.

2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

Fièvre Q :

Sérologie par immunofluorescence

Détection moléculaire : par ciblage de la séquence d'insertion IS1111

Génotypage : multispacer typing ou séquençage génomique

***Rickettsia* :**

Sérologie par immunofluorescence

Détection moléculaire : par ciblage des gènes GLTA et OMPA

Génotypage : multispacer typing ou séquençage génomique

***Bartonella* :**

Sérologie par immunofluorescence

Détection moléculaire : par ciblage du gène FTSZ et de la séquence intergénique 16S-23S rRNA

Génotypage : multispacer typing ou séquençage génomique.