

# RAPPORT ANNUEL

# D'ACTIVITE 2023

***Année d'exercice 2022***

CNR *Rickettsia, Coxiella et Bartonella*

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

Résumé analytique	4
Faits marquants	4
Executive summary	5
Highlight	5
<b>1. Missions et organisation du CNR</b>	<b>6</b>
Organigramme	6
Démarche Qualité	6
<b>2. Activités d'expertise</b>	<b>7</b>
Evolution des techniques	7
Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse	7
Techniques transférées vers d'autres laboratoires	7
Collections de matériel biologique	7
Activités d'expertises	8
Activités de séquençage	9
Partage de séquences produites par les CNR	10
<b>3. Activités de surveillance</b>	<b>11</b>
Description du réseau de partenaires	11
3.1.1. Collaborations avec l'ECDC	12
3.1.2. Coopérations institutionnelles	12
3.1.3. Collaborations avec les pays étrangers	13
3.1.4. Collaborations avec l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail	15
Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	15
3.2.1. Surveillance des rickettsioses, de la fièvre Q et des bartonelloses	15
3.2.2. Diagnostic de la fièvre Q	15
3.2.3. Diagnostic des Rickettsioses	21
3.2.4. Diagnostic des Bartonelloses	23
Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	27
Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	27
Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	27
<b>4. Alertes</b>	<b>28</b>
<b>5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil</b>	<b>29</b>
Conseil et expertise aux professionnels de santé	29
Conseil et expertise aux autorités sanitaires	29
Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)	29
<b>6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR</b>	<b>30</b>
Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	30
6.1.1. Fièvre Q	30
6.1.2. Rickettsia	31
6.1.3. Bartonella	31
Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	32

6.2.1. Fièvre Q .....	32
6.2.2. Rickettsies .....	32
6.2.3. Bartonella.....	33
6.2.4. Communications dans les congrès internationaux .....	33
6.2.5. Communications dans les congrès nationaux .....	33
<b>7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux .....</b>	<b>34</b>
<b>8. Programme d'activité pour les années suivantes .....</b>	<b>35</b>
8.1. Démarche qualité .....	35
8.2. Activité de recherche en 2022 .....	35
8.3. Activité d'expertise .....	35
<b>1. Annexe 1 : Missions &amp; organisation du CNR .....</b>	<b>36</b>
Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés .....	36
Organisation du CNR .....	37
Locaux et équipements .....	38
1.3.1. Les activités de sérologie et détection moléculaire du CNR (responsables PE. Fournier et F. Fenollar) .....	39
1.3.2. Les activités de culture du CNR (responsable B. La Scola) .....	39
1.3.3. Les plateformes techniques de l'IHU auxquelles le CNR a accès .....	40
1.3.4. Les principaux équipements .....	41
Collections de matériel biologique .....	44
1.4.1. Conservation sécurisée des souches bactériennes .....	44
1.4.2. Souchier de microorganismes fastidieux .....	45
Démarche qualité du laboratoire .....	50
<b>2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR .....</b>	<b>51</b>
Liste des techniques de référence .....	51
2.1.1. La sérologie .....	51
2.1.2. Détection moléculaire .....	52
2.1.3. Culture .....	53
Liste des techniques recommandées par le CNR .....	54

## RESUME ANALYTIQUE

### Faits marquants

#### Résumé analytique des activités pour l'année 2022

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 2022, le personnel du CNR a été renouvelé en partie.

En 2022, le CNR a reçu **11446** échantillons de sérum provenant de **9246** patients. Tous les sérums ont été testés pour la présence d'anticorps contre *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* sp. et *Bartonella* sp. De plus, **8776** échantillons biologiques divers provenant de **5913** patients ont été reçus pour culture et/ou détection moléculaire. Les échantillons de sérum étaient adressés comme demandes primaires dans **54.9%** des cas. En 2022, le CNR a diagnostiqué **127** nouveaux cas de fièvre Q aiguë (+32% par rapport à 2021), **84** nouveaux cas de fièvre Q persistante focalisée (+68% par rapport à 2021), **55** nouveaux cas de rickettsioses (+5% par rapport à 2021) et **85** nouveaux cas de bartonelloses (-14% par rapport à 2021).

En ce qui concerne la fièvre Q, nous avons observé en France métropolitaine une augmentation du nombre de diagnostics de fièvre Q aiguë en 2021 (**107** vs **63** cas en 2020, +70%) et du nombre de diagnostics de formes focalisées de la fièvre Q (fièvre Q chronique), avec **76** cas en 2021 contre **43** en 2021 (+77%).

En Guyane française, le nombre de diagnostics de fièvre Q aiguë a diminué entre 2021 et 2022, passant de **29** à **19** cas (-34%).

Pour ce qui est des rickettsies, le nombre de diagnostics de rickettsioses faits au CNR a augmenté, avec **55** diagnostics (vs **52** en 2021, +5%), dont **18** cas de Scalp Eschar and Neck Lymph-Adenopathy after Tick Bite (*R. raoultii* et *R. slovaca*), **17** cas d'African tick-bite fever (*R. africae*), **14** cas de fièvre boutonneuse méditerranéenne (*Rickettsia conorii* et *R. massiliae*), **5** cas de Lymphangitis Associated Rickettsiosis (*R. sibirica mongolitimonae*), et **1** cas de typhus murin (*R. typhi*).

Au cours de l'année 2022, le nombre de cas d'infections à *Bartonella* a diminué par rapport à 2021, avec **85** patients, dont **52** maladies des griffes du chat, **31** endocardites, **1** péliose hépatique et **1** angiomatose bacillaire. Par rapport à 2021, le nombre de diagnostics de maladie des griffes du chat (**52** vs **78**, -33%) a diminué alors que le nombre de diagnostics d'endocardite a augmenté (**31** vs **17**, +82%).

## EXECUTIVE SUMMARY

### Highlights

#### Analytical summary of activities for year 2022

Q fever, rickettsioses and bartonelloses 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 2021, the FRC underwent several personnel changes.

In 2021, the FRC received **11,446** serum samples from **9246** patients. All sera were tested for the presence of antibodies against *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* sp. and *Bartonella* sp. In addition, **8776** varied biological samples from **5913** patients were received for culture and / or molecular detection. Serum samples were sent as primary requests in 54.9% of cases respectively. In 2022, the FRC diagnosed **127** new cases of acute Q fever (+32% compared to 2021), **84** new cases of persistent focused Q fever (+68% compared to 2021), **55** new cases of rickettsioses (+5% compared to 2021) and **85** new cases of bartonelloses (-14% compared to 2021).

Regarding Q fever, in mainland France we observed an increase in the number of diagnoses of acute Q fever in 2022 (**107** vs **63** cases in 2020, +70%) and in the number of diagnoses of focused forms of Q fever (chronic Q fever), with **76** cases in 2022 against **43** in 2021 (+77%).

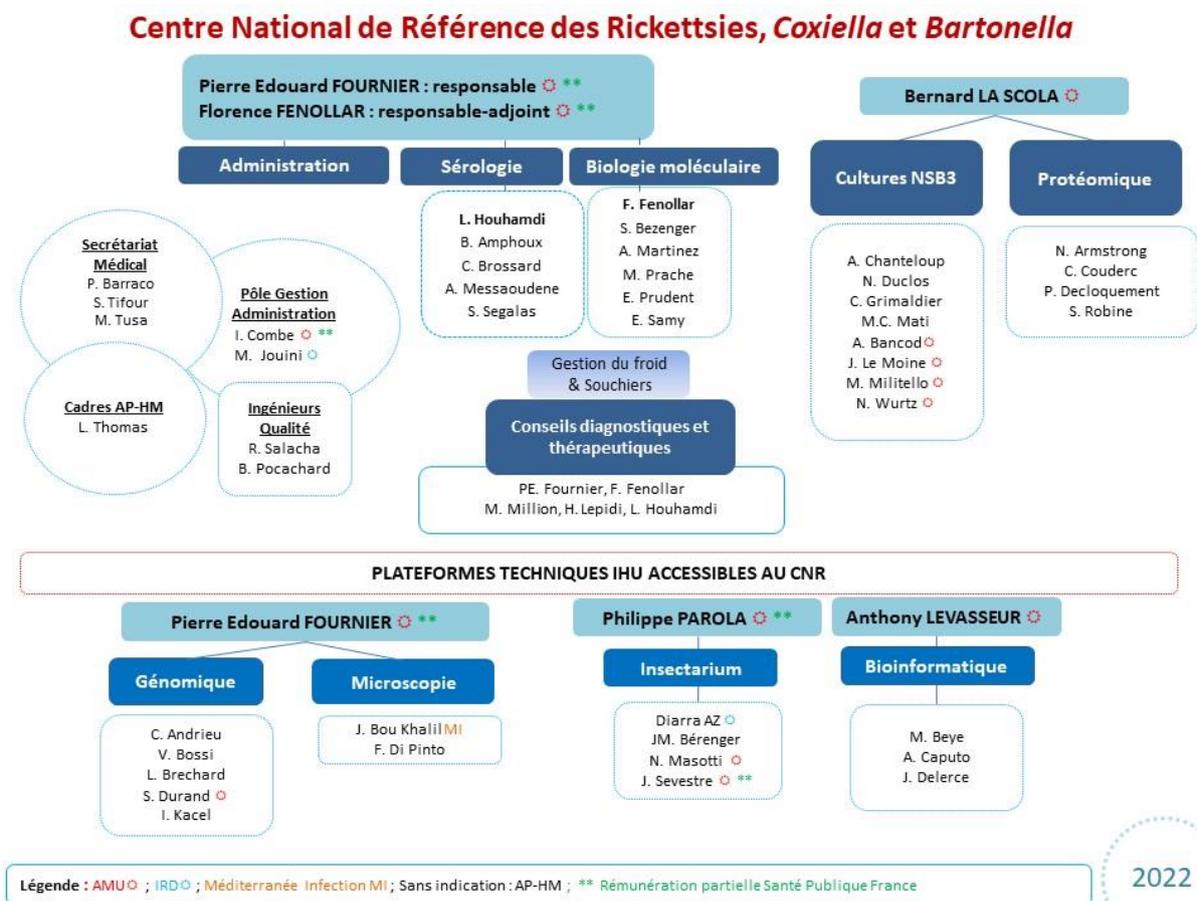
In French Guiana, the number of acute Q fever diagnoses decreased between 2021 and 2022, from **29** to **19** cases (-34%).

Regarding rickettsiae, the number of rickettsial diagnoses made at the FRC increased, with **55** diagnoses (vs **52** in 2020, +5%), including **18** cases of Scalp Eschar and Neck Lymph-Adenopathy after Tick Bite (*R. raoultii* and *R. slovaca*), **17** cases of African tick-bite fever (*R. africae*), **14** cases of Mediterranean spotted fever (*R. conorii* and *R. massiliae*), **5** cases of Lymphangitis Associated Rickettsiosis (*R. sibirica mongolitimonae*), and **1** case of murine typhus (*R. typhi*).

In 2022, the number of cases of *Bartonella* infections decreased compared to 2021, with **85** patients, including **52** cat scratch diseases, **31** endocarditis, **1** hepatic peliosis and **1** bacillary angiomatosis. Compared to 2021, the number of cat scratch disease diagnoses (**52** vs **78**) decreased (-33%) while the number of endocarditis diagnoses increased (**31** vs **17**, +82%).

# 1. Missions et organisation du CNR

## Organigramme



## 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 2022

- \* Plus de **20 000** échantillons cliniques reçus,
- \* Plus de **100 000** analyses réalisées,
- \* Isolement de 9 souches de *Coxiella burnetii*, d'1 souche de *Bartonella henselae* et d'1 souche de *Rickettsia slovaca* ,
- \* Séquençage de 113 génomes de *Coxiella burnetii*, 5 de *Rickettsia* sp. et 39 de *Bartonella* sp.

### Evolution des techniques

L'identification des arthropodes reçus par le CNR est à présent systématiquement réalisée en première intention par spectrométrie de masse (MALDI TOF-MS).

### Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

En 2022, nous n'avons pas réalisé d'évaluation de kit diagnostique.

### Techniques transférées vers d'autres laboratoires

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).

### Collections de matériel biologique

En 2022, le CNR a reçu 11446 échantillons de sérums et 8776 échantillons biologiques divers (sang, biopsies, liquides de ponctions, arthropodes ...).

De plus, 9 souches de *Coxiella burnetii*, 1 souche de *Bartonella henselae* et 1 souche de *Rickettsia slovaca* ont été cultivées.

## Activités d'expertises

Echantillons		Type d'analyses réalisées
Type	Nombre	
Souches	0	
Sérums	11130	<b>SEROLOGIES</b>
France		
Etranger	316	<p><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></p> <p>+ <u>Antigènes testés en plus si patient infecté en Europe et bassin méditerranéen</u> : <i>R. slovacae</i>, <i>R. massiliae</i>, <i>R. aeschlimannii</i>, <i>R. helvetica</i>, <i>R. raoultii</i>, <i>R. sibirica mongolitimonae</i></p> <p>Ou</p> <p>+ <u>Antigènes testés en plus si patient infecté en Afrique sub-saharienne</u> : <i>R. africae</i></p> <p>Ou</p> <p>+ <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></p> <p>Ou</p> <p>+ <u>Antigènes testés en plus si patient infecté en Amérique</u> : <i>R. rickettsii</i>, <i>R. parkeri</i></p> <p>Ou</p> <p>+ <u>Antigènes testés en plus si patient infecté en Australie</u> : <i>R. australis</i>, <i>R. honei</i></p>
Autres types de prélèvements		<b>PCR</b>
France	8737	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.
Etranger	39	
		<b>CULTURE CELLULAIRE</b>
		Si PCR positive et échantillon reçu dans des conditions permettant la culture, culture sur cellules endothéliales.

## 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

## Activités de séquençage

Le CNR a accès à plateforme de séquençage génomique de l'IHU qui est spécialisée dans le séquençage génomique des bactéries intra-cellulaires et des 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, 113 souches de *Coxiella burnetii*, 5 souches de *Rickettsia* et 39 souches de *Bartonella* ont fait l'objet d'un séquençage génomique.

### Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Accès interne : plateforme génomique et séquençage 4 séquenceurs Illumina MiSeq, 1 séquenceur Illumina NovaSeq, 2 séquenceurs Gridlon, 1 séquenceur Promethlon et 1 séquenceur Minion Oxford Nanopore.

### Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Accès interne Logiciels utilisés : Assemblage SPADES, SOAP, A5; Annotation Prokka.

### Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Surveillance : Pangénome de <i>Coxiella burnetii</i> en collaboration avec le LNR de la fièvre Q (Dr Elodie Rousset, Sophia Antipolis).

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 2022, aucun séquençage n'a été effectué à des fins d'investigation d'épidémie.

#### Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Nombres de séquences réalisées dans l'année : 113 génomes de *Coxiella burnetii*, 5 génomes de *Rickettsia* et 39 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 :génomés assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?

Les séquences génomiques assemblées sont déposées dans GenBank.

### 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

En 2022, le CNR des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* a reçu **11446** échantillons de sérum provenant de **9246** patients. Tous les sérums ont été testés pour la présence d'anticorps contre *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* sp. et *Bartonella* sp. De plus, **8776** échantillons biologiques divers provenant de **5913** patients ont été reçus pour culture et/ou détection moléculaire. Les échantillons de sérum étaient adressés comme demandes primaires dans **54.9%** des cas. En 2022, le CNR a diagnostiqué **127** nouveaux cas de fièvre Q aiguë (+32% par rapport à 2021), **84** nouveaux cas de fièvre Q persistante focalisée (+68% par rapport à 2021), **55** nouveaux cas de rickettsioses (+5% par rapport à 2021) et **85** nouveaux cas de bartonelloses (-14% par rapport à 2021).

En ce qui concerne la fièvre Q, nous avons observé en France métropolitaine une augmentation du nombre de diagnostics de fièvre Q aiguë en 2021 (**107** vs **63** cas en 2020, +70%) et du nombre de diagnostics de formes focalisées de la fièvre Q (fièvre Q chronique), avec **76** cas en 2021 contre **43** en 2021 (+77%).

En Guyane française, le nombre de diagnostics de fièvre Q aiguë a diminué entre 2021 et 2022, passant de **29** à **19** cas (-34%).

Pour ce qui est des rickettsies, le nombre de diagnostics de rickettsioses faits au CNR a augmenté, avec **55** diagnostics (vs **52** en 2021, +5%), dont **18** cas de Scalp Eschar and Neck Lymph-Adenopathy after Tick Bite (*R. raoultii* et *R. slovaca*), **17** cas d'African tick-bite fever (*R. africae*), **14** cas de fièvre boutonnière méditerranéenne (*Rickettsia conorii* et *R. massiliae*), **5** cas de Lymphangitis Associated Rickettsiosis (*R. sibirica mongolitimonae*), et **1** cas de typhus murin (*R. typhi*).

Au cours de l'année 2022, le nombre de cas d'infections à *Bartonella* a diminué par rapport à 2021, avec **85** patients, dont **52** maladies des griffes du chat, **31** endocardites, **1** péliose hépatique et **1** angiomatose bacillaire. Par rapport à 2021, le nombre de diagnostics de maladie des griffes du chat (**52** vs **78**, -33%) a diminué alors que le nombre de diagnostics d'endocardite a augmenté (**31** vs **17**, +82%).

#### 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),

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](http://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](http://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 par le Pr Raoult, 1<sup>er</sup> Président de l'ESCCAR. 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 :

- 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)
- 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
<b>Europe</b>		
Belgique	Dr Monny Hing	Bruxelles
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
	Dr Anna Santos	Lisbonne
Portugal	Dr Rita de Sousa	Lisbonne
Russie	Pr Stanislav Shpynov	Omsk
Slovaquie	Dr Zuzana Sekeyova	Bratislava
Suisse	Pr Gilbert Greub	Lausanne
	Dr Alexis Dumoulin	Sion
<b>Maghreb</b>		
Algérie	Dr Idir Bitam	Alger
	Dr Kheira Mokrani	Batna
	Pr Najet Mouffok	Oran
	Pr Rachid Saïle	Casablanca
Maroc	Dr Nadia Boudebouch	Casablanca
Tunisie	Pr Amel Letaïef	Sousse
	Dr Abir Znazen	Sfax
<b>Asie</b>		
Japon	Pr Hisachi Inokuma	Obihiro
Laos	Pr Paul Newton	Vientiane
Thaïlande	Dr Yupin Supputamongkol	Bangkok
	Pr George Watt	Bangkok
<b>Océanie</b>		
Australie	Pr Stephen Graves	Victoria
	Pr John Stenos	Geelong
Guyane française	Dr Didier Musso	Cayenne
<b>Amériques</b>		
Canada	Pr Thomas J. Marrie	Edmonton
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 signé 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* qui a été matérialisée par une publication dans *Frontiers in Microbiology* (Abou Abdallah R, et coll. Pangenomic analysis of *Coxiella burnetii* unveils new traits in genome architecture. *Front Microbiol.* 2022;13:1022356).**

## 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 2022, 11446 échantillons de sérum provenant de 9246 patients ont été testés au CNR pour la présence d'anticorps contre *C. burnetii* contre 12356 prélèvements de 9809 patients en 2021 (-7.3%). De plus, nous avons reçu 8776 échantillons divers (sang, biopsies ganglionnaires, valves cardiaques, biopsies vasculaires, osseuses, ...) de 5913 patients (contre 9504 échantillons de 6066 patients en 2021, -7.6%) pour diagnostic moléculaire et culture.

### A. Diagnostic sérologique

Au total, **399 patients** se sont révélés positifs en IgG ( $\geq 1 : 100$ ) et/ou IgM ( $\geq 1 : 50$ ). **Cent vingt-sept** nouveaux cas de fièvre Q aiguë ont été diagnostiqués en 2022 contre **96 (+32%)** en 2021, et **84** nouveaux cas de fièvre Q persistante focalisée contre **50 (+68%)** en 2021. Enfin, **188** patients présentaient une cicatrice sérologique de fièvre Q ancienne ou un profil de fièvre Q persistante focalisée diagnostiquée avant 2022.

### B. Diagnostic par biologie moléculaire

**Trois cent vingt-quatre prélèvements cliniques de soixante-trois** patients se sont révélés positifs pour *C. burnetii* en détection moléculaire.

### C. Diagnostic par culture

En outre, **9** souches de *Coxiella burnetii* ont été isolées en culture cellulaire de biopsies de valves cardiaques (3), d'échantillons de sérum (3), de biopsie d'anévrisme de l'aorte (1), d'échantillon de sang EDTA (1), et de pus d'infection de prothèse mammaire (1).

### D. Fièvres Q aiguës

Le nombre de patients atteints de fièvre Q aiguë en 2022 et pour lesquels le CNR a reçu des prélèvements était de **127** répartis en **107** patients en France métropolitaine, **19** patients en Guyane française et **1** patient en Île de France ayant contracté la fièvre Q en République du Congo. L'incidence de la fièvre Q aiguë en France (métropole et départements d'Outre-Mer) calculée à partir des diagnostics obtenus au CNR en 2022 est de **0.15** pour 100.000 personnes, en légère hausse par rapport à 2021 (0.14). Ce taux d'incidence est un taux minimum qui sous-estime la réalité puisque la maladie n'est pas à déclaration obligatoire. Aucune épidémie de fièvre Q n'a été décelée en 2022 en France. Toutefois, nous avons été alertés par Santé Publique France sur deux cas de fièvre Q survenus en mai 2022 parmi des employés de l'abattoir de Montmorillon (département de la Vienne). Parmi les 107 patients atteints de fièvre Q aiguë contractée en France métropolitaine, **77 (71.9%)** étaient de sexe masculin (sex ratio M/F 2.6). L'âge moyen des patients atteints de fièvre Q était de **54.0 +/- 17.2** ans. Le plus jeune patient atteint de fièvre Q aiguë avait 12 ans, et le plus âgé 91 ans. Sur les 107 patients, nous avons pu obtenir des renseignements cliniques détaillés pour 97. **Cinquante-trois** des 97 patients atteints de fièvre Q aiguë présentaient une hépatite fébrile (54.6%), **9** une pneumonie (9.3%), **24** une fièvre isolée (24.7%), **5** une péricardite (5.1%), **2** une myocardite (2.0%), **1** une endocardite aiguë (1.0%), **1** une méningite (1.0%), **1** une uvéite (1.0%), et **1** un syndrome inflammatoire biologique avec thrombopénie sans signe clinique (1.0%) (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	53	53 +/- 16.0	2.3
Pneumonie	9	50 +/- 20.6	3.5
Fièvre isolée	24	54 +/- 15.6	3.0
Péricardite	5	66 +/- 18.0	5.0
Myocardite	2	52, 77*	0/2¶
Endocardite aiguë	1	56*	1/0¶
Méningite	1	49*	0/1¶
Uvéite	1	57*	0/1¶
Syndrome inflammatoire biologique	1	75*	1/0¶

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

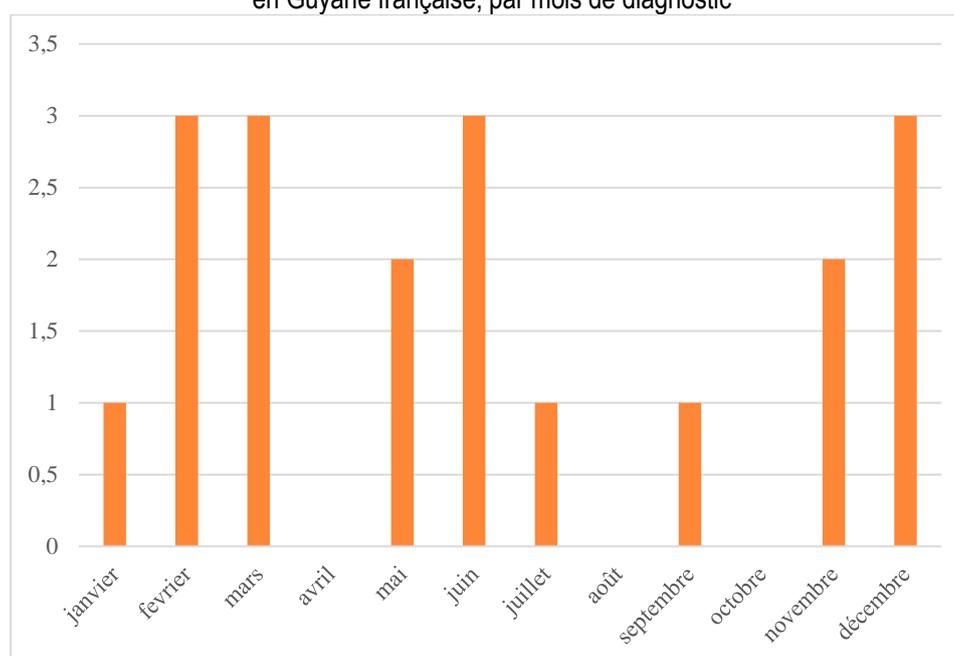
La répartition temporelle des cas métropolitains de fièvre Q aiguë en fonction du mois du diagnostic pour 2022 montre un pic de mai à août (55.9%), comme en 2021 (Figure 1). La répartition géographique des cas métropolitains de fièvre Q en 2022 est présentée dans la Figure 2. La majorité des nouveaux cas de fièvre Q aiguë (29.5%) a été diagnostiquée dans la région Provence-Alpes-Côte d'Azur (PACA), suivie par les régions Occitanie (14.3%), Auvergne-Rhône-Alpes (13.3%), Nouvelle Aquitaine (13.3%) et Pays de la Loire (8.6%).

Outre-mer, la Guyane est la région française où la fièvre Q a la plus forte incidence, avec **19** nouveaux cas de fièvre Q aiguë diagnostiqués en 2022 (Figure 3), soit une incidence pour 100.000 habitants de **5.9**, en augmentation par rapport à l'année 2021 (3.7). Parmi les 19 patients atteints de fièvre Q aiguë contractée en Guyane, 11 (**57.9%**) étaient de sexe masculin (sex ratio M/F 1.3). L'âge moyen des patients atteints de fièvre Q était de **54.0 +/- 13.4** ans. Le plus jeune patient atteint de fièvre Q aiguë avait 24 ans, et le plus âgé 76 ans. Au plan clinique, la fièvre Q en Guyane s'est manifestée en 2022 en majorité par une pneumonie interstitielle fébrile (17 patients, 89.5%), suivie d'hépatite (1 patient, 5.3%) et de pleuro-péricardite (1 patient, 5.3%), 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 en République du Congo.



**Figure 3.** Répartition annuelle des cas de fièvre Q aiguë diagnostiqués par le CNR en 2022 en Guyane française, par mois de diagnostic



### E. Epidémies de fièvre Q aiguë en France en 2022

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-quatre** nouveaux cas d'infection persistante focalisée à *C. burnetii* (fièvre Q chronique) ont été diagnostiqués par le CNR en 2022 contre **50** en 2010 (-68%). Parmi ces patients, le sex ratio H/F était de 3.9 (67/1) et l'âge moyen était de **66.0 +/- 17.4** ans. Parmi les 80 patients diagnostiqués comme ayant une infection focale à *C. burnetii* et pour lesquels des informations cliniques ont pu être obtenues, 45 avaient une endocardite (56.2%), 26 une infections vasculaire (32.5%), 6 une infection ostéo-articulaire (7.5%) et 1 une hépatite fébrile (1.2%). De plus, une patiente a présenté une fausse-couche (1.2%) et une autre une infection de prothèse mammaire (1.2%). Ce cas est la première infection de prothèse mammaire diagnostiquée au CNR. Les patients atteints d'infections vasculaires ou d'infection ostéo-articulaire présentaient un âge plus élevé que ceux présentant une endocardite (75.0 +/- 8.2 ans et 72 +/- 8.2 ans vs 61.0 +/- 19.2 ans). Concernant l'origine des patients présentant une forme persistante focalisée de fièvre Q en France métropolitaine, la région Nouvelle Aquitaine est première (16 patients), suivie d'Auvergne-Rhône-Alpes (15), PACA et Occitanie (11), Ile de France (7), Hauts de France (4), Bretagne (3), Centre-Val de Loire, Grand Est et Normandie (2), Bourgogne-Franche Comté et Pays de la Loire (1). En

dehors de la France métropolitaine, 1 endocardite a été diagnostiquée en Guyane française, 1 à la Réunion, 4 en Italie et 1 à la Réunion, où 1 cas d'infection vasculaire a également été diagnostiqué.

### **G. Représentativité des données du CNR**

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

En 2022, le CNR a tenté d'évaluer la représentativité de ses données par rapport à l'incidence annuelle de fièvre Q en France. Pour cela, deux approches ont été entreprises : a) interroger les principaux laboratoires de biologie médicale français (CHU et principaux groupes de laboratoires privés) ; et b) comparer les données du CNR aux données du Programme de médicalisation des systèmes d'information (PMSI).

- Enquête auprès des laboratoires de biologie français.

Trois questions ont été posées à 40 laboratoires de microbiologie de CHU français et aux groupements de laboratoires CERBA, Eurofins, et Biomnis.

- Quel kit utilisez-vous pour la sérologie de fièvre Q ?

- Combien de cas de fièvre Q aiguë avez-vous diagnostiqués en 2022 ?

- Envoyez-vous des échantillons de sérum au CNR de la fièvre Q ?

**Dix-sept** laboratoires de CHU seulement ont répondu à notre sollicitation, ne permettant pas d'évaluer le nombre de diagnostics au niveau national. Néanmoins, cette enquête a permis de faire un point sur les kits sérologiques utilisés dans les 17 CHU :

- **neuf** laboratoires utilisent un kit Vircell Coxielle burnetii IFA, incluant un laboratoire qui utilise un kit Focus pour tester les anticorps de phase 1.

- **trois** laboratoires envoient systématiquement leurs échantillons au CNR.

- **deux** laboratoires utilisent le kit Focus IFA.

- **deux** laboratoires effectuent leurs sérologies en immunofluorescence avec des antigènes fournis par le CNR.

- **un** laboratoire envoie systématiquement ses échantillons au laboratoire CERBA.

En ce qui concerne l'envoi de sérums positifs pour contrôle au CNR, outre les **trois** laboratoires faisant tester systématiquement leurs sérums, **dix** laboratoires envoient tous leurs sérums positifs, **deux** laboratoires n'envoient que

rarement des sérums positifs, **un** laboratoire n'envoie que les sérums de cas « complexes » ou d'interprétation douteuse, et **un** laboratoire n'envoie aucun sérum au CNR.

Au total, sur les échantillons positifs adressés par seize des dix-sept laboratoires, **31** cas de fièvre Q aiguë et **25** cas de fièvre Q focalisée persistante ont été confirmés.

En ce qui concerne l'enquête PMSI, elle a été réalisée par le Département d'information Médicale du CHU de Marseille. Les résultats obtenus reflètent les nombres de patients dont les séjours hospitaliers (dont les admissions en hôpital de jour) comportaient une codification **A78** (diagnostic de fièvre Q). Une extraction du PMSI national avec le code A78 a détecté **324** patients ayant bénéficié d'un séjour hospitalier, incluant des consultations.

Dans le but d'évaluer les formes cliniques associées à la fièvre Q, le code A78 a été croisé avec les codes I330, I339, I390, I391, I392, I393, I394, I398 (endocardite), A415, KT827 (infection vasculaire), I400 (myocardite), I321 (péricardite), K720, K721, K729, K770 (hépatite/insuffisance hépatique), G008, G009, G028, G042, G048, G050 (méningite), J156, J158 (pneumopathie), O03, O039, O04\* (\* = quelque soit le ou les chiffres après O04), O05, O06, O358, O364 (avortement).

Parmi les **324** cas de fièvre Q répertoriés dans le PMSI, il est possible d'identifier **42** endocardites, **25** infections vasculaires, **13** hépatites, **cinq** pneumopathies, **trois** méningites, **un** avortement. Parmi ces 324, cas, on peut estimer que le nombre d'épisodes de fièvre Q aiguë codés dans le PMSI en 2022 était très majoritaire (**250 à 256**). Ce nombre est le double des **127** cas diagnostiqués par le CNR en 2022, soit une représentativité des données du CNR de l'ordre de **50%** par rapport à celles du PMSI. Toutefois, dans la mesure où les formes aiguës de la fièvre Q sont souvent polymorphes et bénignes, ou d'évolution rapidement favorable sous doxycycline, il est probable que de nombreux cas ne sont pas pris en charge en hospitalisation et que les données du PMSI sous-estiment l'incidence de ces formes, réduisant encore la représentativité des cas diagnostiqués par le CNR.

En revanche, les formes focalisées de fièvre Q les plus fréquentes, comme les endocardites, les infections vasculaires ou les infections au cours de la grossesse, qui nécessitent le plus souvent une prise en charge hospitalière, sont un reflet plus fidèle de l'incidence réelle de ces infections. Ainsi, les 42 cas d'endocardite enregistrés dans le PMSI représentent **93.3%** des 45 cas diagnostiqués au CNR; les cas d'infection vasculaire enregistrés dans le PMSI représentent **96.1%** des 26 cas diagnostiqués au CNR; et un cas d'avortement a également été diagnostiqué par le CNR (**100%**).

Ainsi, si les données du CNR sous-estiment clairement l'incidence des formes aiguës de fièvre Q, elles reflètent de façon assez précise celle des formes chroniques de la maladie.

### 3.2.3. Diagnostic des Rickettsioses

**En 2022, 57 cas de rickettsioses ont été diagnostiqués au CNR contre 52 en 2021 (+10%).**

### A. Diagnostic sérologique

Parmi les **9246** patients testés, un diagnostic de rickettsiose a été porté chez **55** patients (Figure 4). Ces diagnostics incluent les diagnostics suivants : **18 cas de Scalp Eschar and Neck Lymph-Adenopathy after Tick Bite** (SENLAT, *R. raoultii* [2] et *R. slovaca* [16]), **17 cas d'African tick-bite fever** (ATBF, *R. africae*), **14 cas de fièvre boutonneuse méditerranéenne** (FBM, *Rickettsia conorii* [12] et *R. massiliae* [2]), **5 cas de Lymphangitis Associated Rickettsiosis** (LAR, *R. sibirica mongolitimonae*), et **1 cas de typhus murin** (TM, *R. typhi*). 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 4.

### B. Diagnostic par biologie moléculaire

**Mille cent-onze** prélèvements de 553 patients ont fait l'objet d'un diagnostic par biologie moléculaire. Quatre-vingt-quinze (8.5%) de ces prélèvements se sont révélés positifs et ont permis de contribuer au diagnostic de rickettsioses pour 42 des 57 patients positifs. La nature des prélèvements les plus fréquemment positifs étaient les biopsies cutanées d'escarre (48%), les écouvillons d'escarre (48%) et les échantillons de sérum (4%).

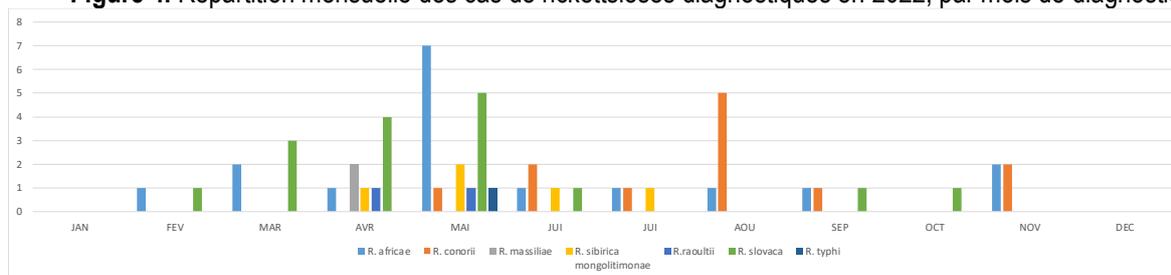
### C. Diagnostic par culture

En outre, **1** souche de *Rickettsia slovaca* a été isolée d'une culture cellulaire d'escarre.

### D. Répartition des cas de rickettsioses diagnostiqués

Les 18 patients présentant un tableau de SENLAT sont issus des régions suivantes : Auvergne-Rhône-Alpes, Bourgogne-Franche Comté, Nouvelle Aquitaine, Occitanie, PACA et Pays de la Loire, et la maladie a été majoritairement contractée de mars à mai. Les 17 cas d'ATBF ont été contractés lors de la visite de parcs animaliers en Afrique du sud (15), en Tanzanie (1) ou au Zimbabwe (1) où la maladie est endémique et transmise par les tiques du genre *Amblyomma*. Les 14 cas de FBM ont été diagnostiqués en majorité en été dans la région PACA ainsi qu'au Maroc, en Algérie et au Portugal (Figure 4, Tableau 4), qui sont des régions endémiques pour cette rickettsiose associée à la tique brune du chien, *Rhipicephalus sanguineus*. Les 5 patients présentant une LAR ont été infectés en régions Occitanie, PACA et Auvergne-Rhône-Alpes. Les cas sont survenus entre avril et juillet (Figure 4). Le cas de typhus murin a été contracté à la réunion en mai.

**Figure 4.** Répartition mensuelle des cas de rickettsioses diagnostiqués en 2022, par mois de diagnostic



**Tableau 4.** Caractéristiques des patients chez lesquels un diagnostic de rickettsiose a été posé en 2022 (N = 55)

Infection	Sex ratio H/F	Age moyen, déviations standard	Lieu de piqûre
SENLAT	9/9	41.0 +/- 27.9	Auvergne-Rhône-Alpes, Bourgogne-Franche Comté, Nouvelle Aquitaine, Occitanie, PACA, Pays de la Loire
African tick-bite fever	11/6	45 +/- 20.4	Afrique du Sud, Tanzanie, Zimbabwe
Fièvre boutonneuse méditerranéenne	7/7	61.0 +/- 18.6	PACA, Algérie, Maroc, Portugal
Lymphangitis Associated Rickettsiosis	2/3	54.0 +/- 29.2	Auvergne-Rhône-Alpes, Occitanie, PACA
Typhus murin	1/0	37	La Réunion

### 3.2.4. Diagnostic des Bartonelloses

En 2022, 85 cas d'infections à *Bartonella* sp. ont été diagnostiqués au CNR, contre 99 en 2021 (-14%). Cinquante-deux de ces patients étaient atteints de **maladie des griffes du chat** (MGC). Un diagnostic d'**endocardite** a été porté chez 31 patients : à *B. henselae* (21 patients) et *B. quintana* (10 patients). Un cas de péliose hépatique (*B. henselae*), et 1 cas d'angiomatose bacillaire à *B. henselae* ont également été diagnostiqués.

#### A. Diagnostic sérologique

Trente-huit échantillons de sérums (pour 23 patients) se sont révélés positifs (taux d'IgG  $\geq 1$  :100) en sérologie. Les sérums positifs étaient ceux de patients atteints d'endocardite, et dans un cas d'un patient atteint de fièvre Q, en raison des réactions sérologiques croisées observées entre ces bactéries.

#### B. Diagnostic par biologie moléculaire

Quatre-vingt-quatre des 1592 prélèvements adressés pour diagnostic moléculaire, pour 48 patients, se sont révélés positifs.

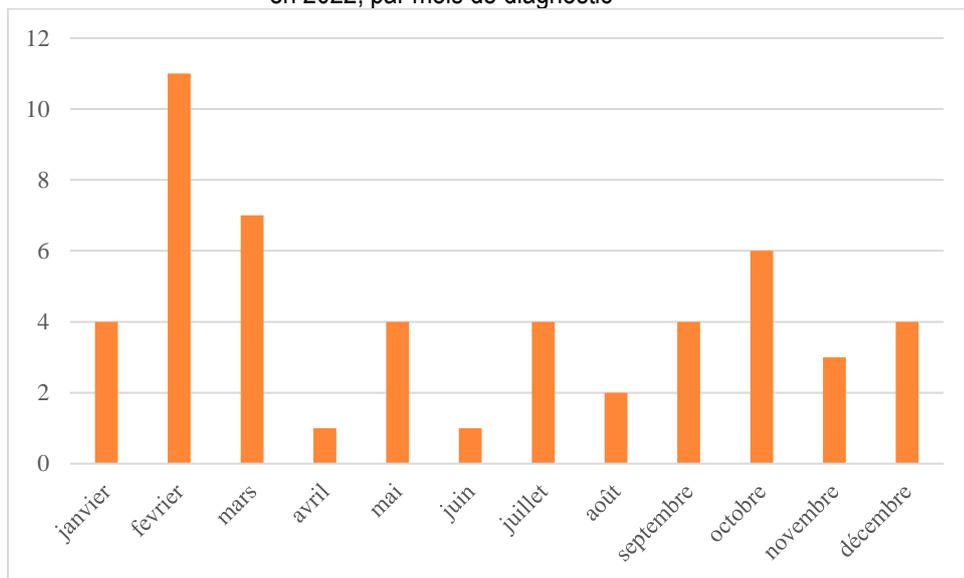
### C. Diagnostic par culture

Une souche de *Bartonella henselae* a été isolée d'une culture de biopsie ganglionnaire.

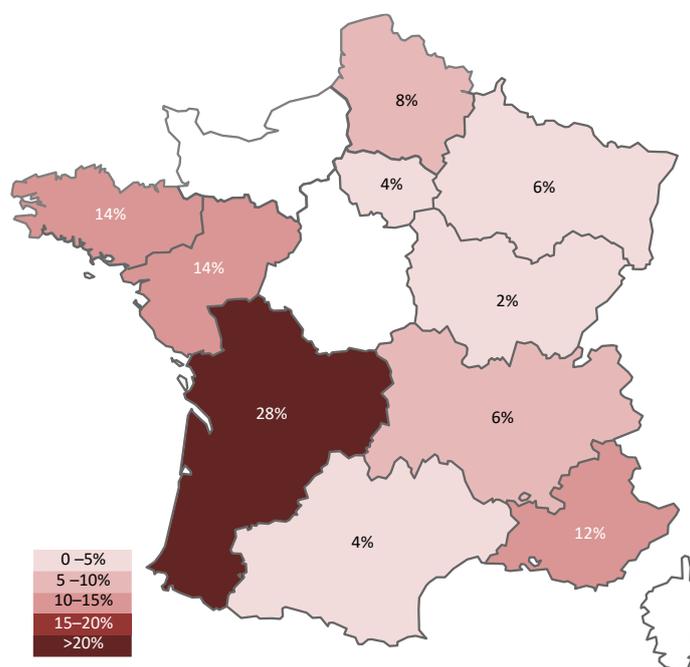
### D. Maladie des griffes du chat

Un diagnostic de maladie des griffes du chat (MGC) a été porté chez 52 patients (Figure 5). Les patients atteints de MGC étaient majoritairement des hommes (29/52) d'un âge moyen de 32.0 +/- 19.0 (contre 34.0 +/- 18.0 ans pour les femmes). Cette population était plus jeune que les autres patients atteints d'autres formes de bartonelloses (Tableau 5). La Figure 5 montre la répartition des cas de MGC en fonction du mois de diagnostic avec une forte saisonnalité, déjà observée au cours des années précédentes : 76.9% des cas sont diagnostiqués d'octobre à mai. La répartition géographique des cas de MGC (Figure 6) montrait une prédominance des cas dans l'ouest de la France. La région Nouvelle Aquitaine arrivait en tête avec 28%, suivie par les régions Bretagne et Pays de la Loire (14% chaque), puis PACA (12%). Il est à noter que la Nouvelle Aquitaine est, année après année, la première région en nombre de cas de MGC.

**Figure 5.** Répartition temporelle des cas de maladies des griffes du chat en 2022, par mois de diagnostic



**Figure 6.** Répartition géographique des cas de maladie des griffes du chat diagnostiqués par le CNR en France en 2022



### **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 **21** patients et à *B. quintana* chez **10** patients, de péliose hépatique (*B. henselae*) et d'angiomatose bacillaire à *B. henselae* chez 2 patients immunodéprimés, respectivement.

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

Infection	Nombre de cas	Sex ratio H/F	Age moyen, déviation standard	Région d'origine
Endocardite à <i>B. henselae</i>	21	14/7	58.0+/- 20.0	Bourgogne-Franche Comté, Grand Est, Hauts de France, Ile de France, Normandie, Nouvelle Aquitaine, Occitanie, La Réunion, Nouvelle Calédonie, Italie
Endocardite à <i>B. quintana</i>	10	8/2	47.0+/- 17.5	Auvergne-Rhône-Alpes, Centre-Val de Loire, Grand Est, Ile de France, Mayotte, Grande Bretagne
Péliose hépatique à <i>B. henselae</i>	1	1/0	54	Nouvelle Calédonie
Angiomatose bacillaire à <i>B. henselae</i>	1	0/1	71	Hauts de France

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

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

## 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.

## Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

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) en mai 2022. Le diagnostic a été confirmé au CNR, chez le premier par sérologie, et chez le second par PCR sur sang.

## 4. Alertes

---

Le CNR n'a émis aucune alerte en 2022.

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

---

### 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. Les infectiologues des CHP Saint-Joseph et Clairval, Marseille, assistent sur un rythme régulier à ces séminaires. Chaque semaine un staff organisé le lundi 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 2022, le CNR a reçu 3 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 séniors titulaires. En moyenne, le CNR reçoit du lundi au vendredi 10 appels et autant de courriels en lien avec ses thématiques de recherche.

### Conseil et expertise aux autorités sanitaires

En 2022 le CNR n'a pas été sollicité par le Ministère de la Santé, le HCSP, la HAS ou l'OMS. A la demande de Santé Publique France, le CNR a participé à la relecture de la mise au point sur le typhus murin dans l'île de la Réunion destinée aux professionnels de santé. A la demande de l'Institut national de recherche et de sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles (INRS), le CNR a participé à la rédaction des fiches BAOBAB (base d'observation des agents biologiques) sur les rickettsies (*R. africae*, *R. akari*, *R. australis*, *R. canadensis*, *R. conorii*, *R. heilongjiangensis*, *R. japonica*, *R. montanensis*, *R. prowazekii*, *R. sibirica*, *Rickettsia* spp.).

### 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-referance-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

---

### 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

En 2022, les chercheurs du CNR ont participé à deux études sur la fièvre Q en Guyane. La première a permis de faire le point sur les caractéristiques épidémiologiques de la maladie en étudiant 695 cas diagnostiqués de 2007 à 2017 (1). L'incidence annuelle moyenne de 45.3 pour 100,000 habitants, est parmi les plus élevées au monde. Les facteurs de risque de la maladie en Guyane incluent le genre masculin, être né en métropole, être âgé de 30 à 59 ans et habiter dans et aux alentours de Cayenne. La seconde étude a porté sur la description des spécificités des pneumonies à *Coxiella burnetii*, principale forme clinique de la maladie en Guyane, de 2009 à 2012 (2). La fièvre Q étant la principale de pneumonie communautaire, avec 38.5% de tous les cas, cette étude a montré que l'administration systématique de doxycycline était justifiée en cas de pneumonie aiguë en Guyane.

En collaboration avec des Médecins de la province du Tamil Nadu, où la maladie est sous-diagnostiquée, nous avons décrit deux cas d'endocardite à *C. burnetii* et montré l'utilité d'inclure la fièvre Q dans les diagnostics différentiels d'endocardite à hémocultures négatives dans cette région (3).

Nous avons également poursuivi nos travaux sur l'étude du pangénome de *Coxiella burnetii* engagée il y a plusieurs années en collaboration avec l'équipe du LNR de la fièvre Q à Sofia Antipolis, et publié une étude portant sur 75 génomes dont 63 jamais décrits auparavant (4). Cette étude a montré que la bactérie avait un pangénome ouvert et des îlots génomiques communs, témoignant d'une plasticité génomique élevée pour une bactérie intracellulaire stricte. Nous avons également observé des spécificités patho-génomiques, comme le spaciotype MST1 et les plasmides QpDV and QpH1 associés à la fièvre Q aiguë, la présence du plasmide QpRS esst strictement associée aux formes focalisées persistantes. Enfin, la souche guyanaise CB175, la plus pathogène des souches de *C. burnetii*, possède un spaciotype et un contenu en gènes spécifiques, renforçant the most virulent strain to date, renforçant nos connaissances de la physiopathologie de la fièvre Q dans laquelle à la fois la souche et les facteurs de risque du patient jouent un rôle dans la forme clinique de la maladie.

Enfin, nous avons poursuivi nos études portant sur l'utilisation de la spectrométrie de masse MALDI-TOF pour l'identification des vecteurs potentiels de pathogènes humains et observé que les tiques du genre *Hyalomma* portées par les dromadaires en Algérie pouvaient être identifiées correctement au niveau de l'espèce (5). Dans cette étude, les espèces *H. impeltatum* et *H. dromedarii* se sont révélées des vecteurs potentiels de *C. burnetii*.

Dans une étude du rôle de vecteur potentiel de pathogènes humains des hérissons en Algérie, nous avons détecté *C. burnetii* dans les reins et la rate de cet animal (16).

### 6.1.2. Rickettsia

En 2022, le CNR a rappelé en collaboration avec des collègues européens et américains le risque de résurgence du typhus épidémique en lien avec la guerre en Ukraine (7). Nous avons également décrit un rare cas de paralysie faciale compliquant la fièvre boutonneuse méditerranéenne en France (8), complication qui n'a pas été observée au Danemark (9). Le CNR a également participé à une étude internationale portant sur les causes de fièvre persistante dans six pays tropicaux d'Afrique et Asie (10). Parmi les 1922 patients inclus, les rickettsioses ont représenté 2.3% des cas de fièvre persistante, au 4<sup>ème</sup> rang des causes derrière le paludisme, la tuberculose et la leptospirose.

En 2022, les travaux d'étude pangénomique des rickettsies ont été poursuivis, avec l'analyse de 80 génomes et 41 plasmides, représentant toutes les espèces connues (11). Cette étude suggère qu'un ancêtre des *Rickettsia* a infecté un arthropode ou un insecte puis a évolué à l'intérieur de ce vecteur selon un schéma combinant dégradation de certains gènes et en même temps expansion d'autres, en fonction de trajectoires adaptatives spécifiques et de rencontres avec d'autres microorganismes, en particulier intracellulaires.

Nous avons également conduit plusieurs études sur des arthropodes collectés dans le cadre de diverses études collaboratives, dont l'étude de la diversité génétique de *R. felis* dans les poux du corps chez les pygmées du Congo (12) ; l'étude du rôle du pou de livre *Liposcelis bostrychophila* dans l'épidémiologie de *R. felis* (13) ; la détection d'espèces de *Rickettsia* (*R. africae*, *R. aeschlimannii*, *R. massiliae*, *Candidatus R. barbariae* et *Rickettsia* sp.) dans 23% de 944 tiques prélevées sur du bétail au Cameroun (14) ; l'absence de *Rickettsia* mais la présence de *Wolbachia* dans des punaises de lit en zone rurale au Sénégal (15) ; la présence de *R. felis* et *R. massiliae* dans des tiques prélevées sur des hérissons en Algérie (16) ; la détection de *R. africae*, *R. aeschlimannii*, *R. sibirica mongolitimonae* dans des tiques *Hyalomma aegyptium* de tortues en Algérie (17) ;

### 6.1.3. Bartonella

En 2022, le CNR a participé à la description de cinq infections à *Bartonella* sévères et atypiques chez des greffés rénaux (18), incluant microangiopathie thrombotique, hémophagocytose récurrente et syndrome inflammatoire de reconstitution immunitaire (IRIS) après traitement, suggérant de rechercher systématiquement les *Bartonella* en cas de fièvre inexplicée chez le transplanté d'organe.

Le CNR a également conduit plusieurs études sur la recherche des vecteurs des bactéries du genre *Bartonella*, qui ont permis de montrer la présence de *B. massiliensis* et deux nouvelles espèces, *Candidatus B. militaris* et *Candidatus B. affinis* chez des rats de Gambie et leurs puces au Sénégal (19) ; la détection de *Bartonella* spp. dans 0.2% des tiques prélevées chez le bétail au Cameroun (14) ; et la présence d'une nouvelle espèce de *Bartonella* dans des puces de hérisson en Algérie (16).

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

### 6.2.1. Fièvre Q

1. Thill P, Eldin C, Dahuron L, Berlioz-Artaud A, Demar M, Nacher M, Beillard E, Djossou F, Epelboin L. High endemicity of Q fever in French Guiana: A cross sectional study (2007-2017). *PLoS Negl Trop Dis*. 2022;16:e0010349.
2. Epelboin L, Mahamat A, Bonifay T, Demar M, Abboud P, Walter G, Drogoul AS, Berlioz-Arthaud A, Nacher M, Raoult D, Djossou F, Eldin C. Q Fever as a Cause of Community-Acquired Pneumonia in French Guiana. *Am J Trop Med Hyg*. 2022;107:407-415.
3. Balasubramanian R, Fournier PE, Ganesan PS, Menon T. Q fever endocarditis in India: A report of two cases. *Indian J Med Microbiol*. 2022;40:315-316.
4. Abou Abdallah R, Million M, Delerce J, Anani H, Diop A, Caputo A, Zgheib R, Rousset E, Sidi Boumedine K, Raoult D, Fournier PE. Pangenomic analysis of *Coxiella burnetii* unveils new traits in genome architecture. *Front Microbiol*. 2022;13:1022356.
5. Hamlili FZ, Laroche M, Diarra AZ, Lafri I, Gassen B, Boutefna B, Davoust B, Bitam I, Parola P. MALDI-TOF MS Identification of Dromedary Camel Ticks and Detection of Associated Microorganisms, Southern Algeria. *Microorganisms*. 2022;10:2178.
6. Million M, Brouqui P, Raoult D. Re: Treatment of *Coxiella burnetii* endocarditis with hydroxychloroquine by Stahl et al. *Clin Microbiol Infect*. 2022;28:1157-1158.

### 6.2.2. Rickettsies

7. Newton PN, Fournier PE, Tappe D, Richards AL. Renewed Risk for Epidemic Typhus Related to War and Massive Population Displacement, Ukraine. *Emerg Infect Dis*. 2022;28:2125-2126.
8. Bouchaib H, Amrane A, Sevestre J, Bitam I, Parola P. Mediterranean spotted fever and peripheral facial nerve palsy: a rare neurological complication. *Int J Infect Dis*. 2022;117:15-17.
9. Jensen BB, Al-Mashkur NM, Chen M, Fournier PE, Stenager E. Rickettsial infections are an unlikely cause of peripheral facial palsy in Southern Jutland, Denmark. *Dan Med J*. 2022;69:A07210575.
10. Bottieau E, Van Duffel L, El Safi S, Koirala KD, Khanal B, Rijal S, Bhattarai NR, Phe T, Lim K, Mukendi D, Kalo JL, Lutumba P, Barbé B, Jacobs J, Van Esbroeck M, Foqué N, Tsoumanis A, Parola P, Yansouni CP, Boelaert M, Verdonck K, Chappuis F. Etiological spectrum of persistent fever in the tropics and predictors of ubiquitous infections: a prospective four-country study with pooled analysis. *BMC Med*. 2022;20:144.
11. El Karkouri K, Ghigo E, Raoult D, Fournier PE. Genomic evolution and adaptation of arthropod-associated Rickettsia. *Sci Rep*. 2022;12:3807.
12. Amanzougaghene N, Drali Z, Shako JC, Davoust B, Fenollar F, Raoult D, Mediannikov O. High Genetic Diversity and Rickettsia felis in Pediculus humanus Lice Infesting Mbuti (pygmy people), -Democratic Republic of Congo. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12:834388.
13. Mediannikov O, Bechah Y, Amanzougaghene N, Lepidi H, Bassene H, Sambou M, Lienhard C, Benkacimi L, Dieme C, Sokhna C, Fenollar F, Raoult D. Booklice Liposcelis bostrychophila Naturally Infected by Rickettsia felis Cause Fever and Experimental Pneumonia in Mammals. *J Infect Dis*. 2022;226:1075-1083.

14. Ngnindji-Youdje Y, Diarra AZ, Lontsi-Demano M, Tchuinkam T, Parola P. Detection of Tick-Borne Pathogens in Ticks from Cattle in Western Highlands of Cameroon. *Microorganisms*. 2022;10:1957.
15. Ndiaye EHI, Diatta G, Diarra AZ, Berenger JM, Bassene H, Mediannikov O, Bouganali C, Sokhna C, Parola P. Morphological, Molecular and MALDI-TOF MS Identification of Bedbugs and Associated Wolbachia Species in Rural Senegal. *J Med Entomol*. 2022;59:1019-1032.
16. Aouadi N, Benkacimi L, Zan Diarra A, Laroche M, Bérenger JM, Bitam I, Parola P. Microorganisms associated with the North African hedgehog *Atelerix algirus* and its parasitizing arthropods in Algeria. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2022;80:101726.
17. Benyahia H, Diarra AZ, Gherissi DE, Bérenger JM, Benakhla A, Parola P. Molecular and MALDI-TOF MS characterisation of *Hyalomma aegyptium* ticks collected from turtles and their associated microorganisms in Algeria. *Ticks Tick Borne Dis*. 2022;13:101858.

### 6.2.3. Bartonella

18. Bos F, Chauveau B, Ruel J, Fontant G, Campistron E, Meunier C, Jambon F, Moreau K, Delmas Y, Couzi L, Korbi S, Charrier M, Viillard JF, Luciani L, Merville P, Lazaro E, Kaminski H. Serious and Atypical Presentations of *Bartonella henselae* Infection in Kidney Transplant Recipients. *Open Forum Infect Dis*. 2022;9:ofac059.
19. Demoncheaux JP, Medkour H, Louni M, Laugier L, Pasqualini C, Fenollar F, Davoust B, Mediannikov O. Detection of Potential Zoonotic Bartonella Species in African Giant Rats (*Cricetomys gambianus*) and Fleas from an Urban Area in Senegal. *Microorganisms*. 2022;10:489.

### 6.2.4. Communications dans les congrès internationaux :

ESCCAR : International intracellular bacteria meeting 2022, August, 23-26, 2022 - Lausanne, Switzerland  
(v) Fournier P.E. Genomics of *Rickettsia* species unveils an unsuspected level of genetic exchange.

ECCMID, 32nd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 23-26 2022 Lisbon, Portugal.  
(iv) Sevestre J., Parola P. Emergence of Lyme borreliosis in mediterranean southern France: past, present and future"  
(26 avril 2022, Online)

### 6.2.5. Communications dans les congrès nationaux

Journées des Centres de Référence de Maladies Vectorielles à Tiques, 04 avril 2022, Strasbourg, France  
(iii) Sevestre J. Foyers de Borréliose de Lyme et maladies à tiques en PACA.

Journée Raphaëloise de Dermatologie Infectieuse, 29 avril 2022, Saint-Raphaël, France  
(iii) Sevestre J. Borréliose de Lyme et maladies à Tiques en PACA : Le cas Maralpin.

## 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 sur l'étude génomique comparée des souches humaines et animales de *Coxiella burnetii*, matérialisée par l'embauche d'un étudiant post-doctorant commun. En 2017 et 2018, le CNR et le LNR ont analysé le pangénome de *Coxiella burnetii* en comparant les séquences de 79 génomes. Les résultats de cette étude ont fait l'objet d'un article qui a été publié en 2022 (Abou Abdallah R, Million M, Delerce J, Anani H, Diop A, Caputo A, Zgheib R, Rousset E, Sidi Boumedine K, Raoult D, Fournier PE. Pangenomic analysis of *Coxiella burnetii* unveils new traits in genome architecture. *Front Microbiol.* 2022;13:1022356).

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 2022

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.

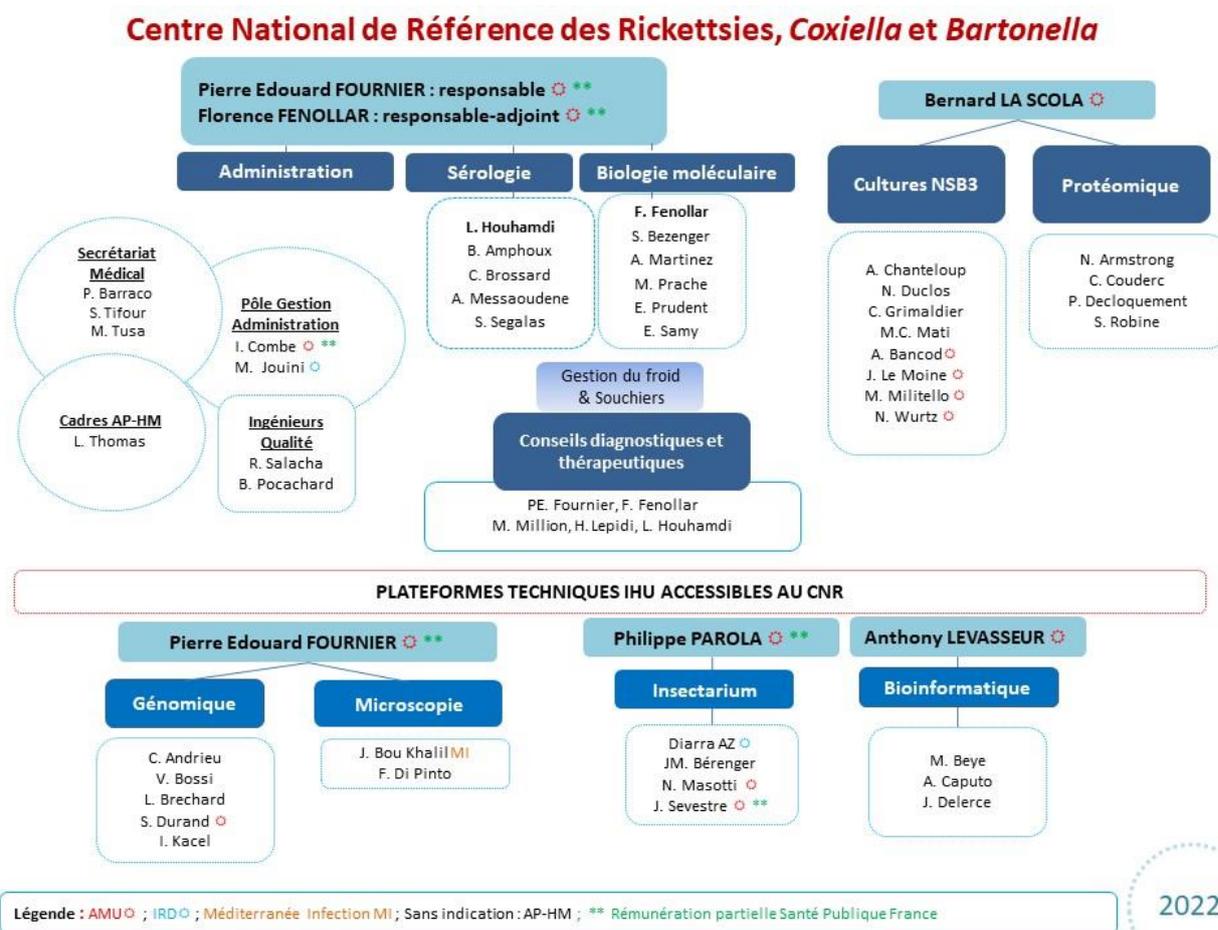
Le CNR poursuivra aussi les analyses pangénomiques des bactéries des genres *Rickettsia* et *Bartonella*.

L'étude ExpairCox sera poursuivie en 2023.

### 8.3. Activité d'expertise

En 2022, le CNR n'a pas évalué de kit diagnostique, activité qui sera reprise en 2023 avec une enquête nationale auprès des CHU de leurs capacités diagnostiques des rickettsioses et bartonelloses.

# 1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR



## 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 1<sup>er</sup> 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.

## Organisation du CNR

### Enseignants chercheurs et chercheurs

NOM Prénom	Fonction	Corps-grade	Tutelle	
FENOLLAR Florence	Enseignant-Chercheur	PU-PH	AMU/AP-HM	Responsable adjoint
<b>FOURNIER Pierre-Edouard</b>	<b>Enseignant-Chercheur</b>	<b>PU-PH</b>	<b>AMU/AP-HM</b>	<b>Responsable</b>
HOUHAMDI Linda	Médecin	PH	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	

### Ingénieurs et équipes techniques

NOM Prénom	Tutelles	Fonction
ANDRIEU Claudia	CHU MARSEILLE - APHM	Ingénieure Rech plateforme génomique
AMPHOUX Bernard	CHU MARSEILLE - APHM	Technicien sérologie
ARMSTRONG Nicholas	CHU MARSEILLE - APHM	Ingénieur Etude protéomique
BANCOD Audrey	AMU CDD	Technicienne fonctionnement NSB3
BERENGER Jean-Michel	CHU MARSEILLE - APHM	Technicien insectarium
BEYE Mamadou	CHU MARSEILLE - APHM	Ingénieur Etude bioinformatique
BEZENGER Sandy	CHU MARSEILLE - APHM	Technicienne sérologie
BOSSI Vincent	CHU MARSEILLE - APHM	Technicien plateforme génomique
BOU KHALIL Jacques	FMI	Ingénieur Recherche microscopie
BRECHARD Ludivine	CHU MARSEILLE - APHM	Ingénieure Recherche plateforme génomique
BROSSARD Catherine	CHU MARSEILLE - APHM	Technicienne sérologie
CAPUTO Aurélie	CHU MARSEILLE - APHM	Ingénieure Rech bioinformatique
CHANTELOUP Alice	CHU MARSEILLE - APHM	Technicienne cultures cellulaires NSB3
COUDERC Carine	CHU MARSEILLE - APHM	Ingénieure Etude protéomique
DECLOQUEMENT Philippe	CHU MARSEILLE - APHM	Ingénieur Recherche protéomique
DELERCE Jérémie	CHU MARSEILLE - APHM	Ingénieur Rech bioinformatique
DIARRA Adama Zan	IRD	Ingénieur Recherche plateforme animalerie/insectarium
DI PINTO Fabrizio	CHU MARSEILLE - APHM	Ingénieur Etude microscopie électronique
DUCLOS Nathalie	CHU MARSEILLE - APHM	Technicienne cultures cellulaires NSB3
DURAND Sarah	AMU CDD	Technicienne plateforme génomique
GRIMALDIER Clio	CHU MARSEILLE - APHM	Technicienne cultures cellulaires NSB3
KACEL Idir	CHU MARSEILLE - APHM	Technicien plateforme génomique
LE MOINE Johanna	AMU CDD	Technicienne fonctionnement NSB3
MARTINEZ Aurélie	CHU MARSEILLE - APHM	Technicienne sérologie
MASOTTI/ FAVRE Noëlle	AMU	Technicienne animalerie - insectarium

MATI Marie-Charlotte	CHU MARSEILLE - APMH	Technicienne cultures cellulaires NSB3
MESSAOUDENE Anissa	CHU MARSEILLE - APMH	Technicienne sérologie
MILITELLO Muriel	AMU	Ingénieure Etude techniques biologiques NSB2/NSB3
POCACHARD Béangère	CHU MARSEILLE - APMH	Ingénieure Qualité
PRACHE Margot	CHU MARSEILLE - APMH	Technicienne sérologie
PRUDENT Elsa	CHU MARSEILLE - APMH	Ingénieure plateforme
ROBINE Simon	CHU MARSEILLE - APMH	Ingénieur Etude protéomique
SALACHA Richard	CHU MARSEILLE - APMH	Ingénieur Qualité
SAMY Emma	CHU MARSEILLE - APMH	Technicienne sérologie
SEGALAS Samantha	CHU MARSEILLE - APMH	Technicienne éérologie
WURTZ Nathalie	AMU	Ingénieure Recherche responsable plateforme NSB2/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 MEDJAHED 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

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

### 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 :

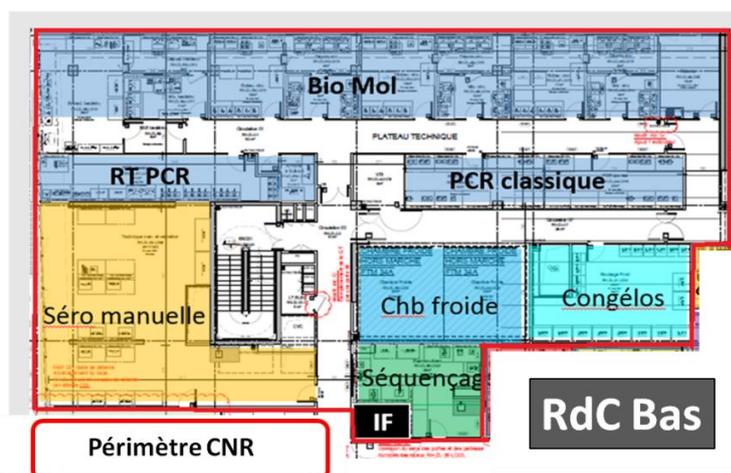
- Trois unités d'hospitalisation de maladies infectieuses (75 lits, dont 25 lits en niveau de sécurité biologique 3).
- Le laboratoire de diagnostic microbiologique (bactériologie, virologie, parasitologie) du CHU de Marseille.

- 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 m<sup>2</sup> divisé en 4 modules de 250 m<sup>2</sup>.
- Les CNR des Arbovirus (Dr Isabelle Leperc-Goffart), 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).
- 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).

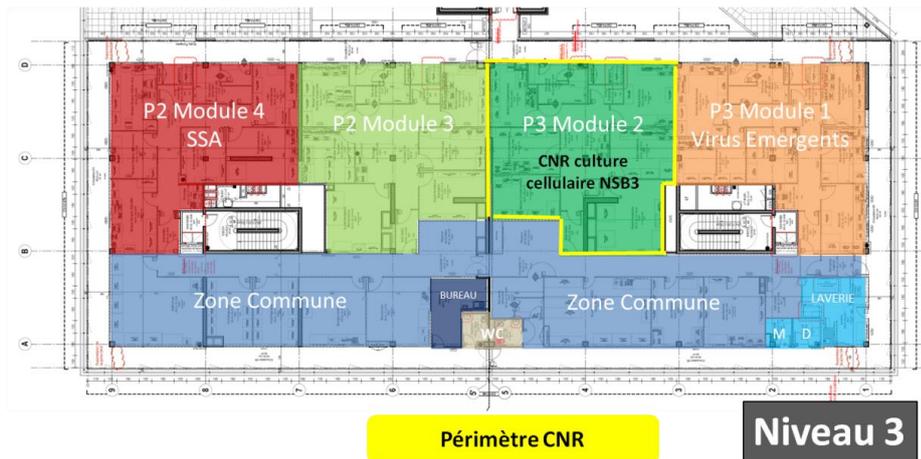
### 1.3.1. Les activités de sérologie et détection moléculaire du CNR (responsables PE. Fournier et F. Fenollar)

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).



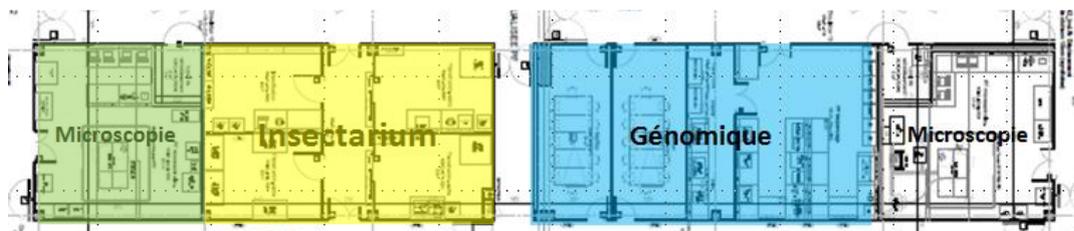
### 1.3.2. Les activités de culture du CNR (responsable B. La Scola)

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 triatomés) 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 triatomés 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, 113 souches de *Coxiella burnetii*, 5 souches de *Rickettsia* et 39 souches de *Bartonella* ont fait l'objet d'un séquençage génomique.

### D. Plateforme Bioinformatique (Responsable : Anthony Levasseur, PR)

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 CO<sub>2</sub>
- 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)
- Spectrometre 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 bioinformaticiens 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.

## 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 664 souches de *Bartonella*, 235 souches de *Rickettsia* et 372 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 m<sup>2</sup> 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 intra-cellulaires. 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, **235 souches de *Rickettsia*, 372 souches de *Coxiella burnetii* et 664 souches de *Bartonella*** sont déposées dans la CSUR (Tableau 2), faisant de cette collection, **la plus grande collection mondiale de bactéries intracellulaires strictes ou facultatives**. 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>rattaaustraliani</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>	372
<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>	7
	<i>montanensis</i>	1
	<i>parkeri</i>	2
	<i>raoultii</i>	8
	<i>rhypicephali</i>	1
	<i>sibirica</i>	16
	<i>slovaca</i>	36
	sp.	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	<input type="text" value="1"/>	750.00
1				<input type="text" value="1"/>	
2				<input type="text" value="1"/>	
<b>Total:</b>					

Please fax (33 (0)413 732 402) or email the order form ([pierre-edouard.fournier@univ-amu.fr](mailto: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](http://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 \_\_\_\_\_



## 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

---

### 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 IgG pour le diagnostic d'endocardite.

Le laboratoire possède une collection importante d'antigènes originaires de tous les continents, ce qui permet d'adapter les 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	
<b>BARTONELLA</b>							
Toutes Bartonella	ITS	Barto ITS3 F	GATGCCGGGGAAGGTTTTC	19		104 pdb	
		Barto ITS3 R	GCCTGGGAGGACTTGAACCT	20			
		Barto ITS3 P	6FAM- GCGCGGCTTGATAAGCGTG	20			
	ITS	Barto ITS2 F2	GGGGCCGTAGCTCAGCTG	18		171 pdb	
		Barto ITS2 R2	TGAATATATCTTCTTTCACAATTC	26			
		Barto ITS2 P	6FAM- CGATCCCCTCCGGCTCCACCA	21			
Bartonella henselae	PAP	PAP 246F	TATGCCTTATGTGTGGTGGT	22		151 pdb	
		PAP 396R	ACCACCGCCAAGAGTGAAAC	20			
	1ère intention	PAP246/396_MBP	6FAM- CAAGCAGCAGATGATGCAGAAATCGC	26			
		PAP 246F/396R ancienne son	6FAM- CTGTCACTTACTAAGGTAA				
	GROEL	GROEL 493F	GGTGTGGCAAAAAGAGCGA	20		151 pdb	
		2ème intention	GROEL 643R	TTGCTCCACCAACACGGATA	20		
		GROEL P 493F/643R	6FAM- AATTGCAAGAAAGACTTGCT	20			
Bartonella quintana	yopP	B qui 11580F	TAAACCTCGGGGAAGCAGA	20		134 pdb	
		B qui 11580R	TTTCGTCTCAACCCATCA	20			
		B qui 11580P	6FAM- CGTTGCCGACAAGACGTCCTTGC	23			
	fabF3	B qui 05300F	GCTGGCCTTGCTCTTGATGA	20		139 pdb	
B qui 05300R		GCTACTCTCGGTGCTTGGA	20				
B qui 05300P		6FAM- TGCAGCAGGTGGAGGAGAACGTG	23				
<b>COXIELLA</b>							
Coxiella burnetii	hypothetical p.	IS30a 3F	CGCTGACCTACAGAAATATGTCC	23		164 pdb	
		1ère intention	IS30a 3R	GGGGTAAAGTAAATAATACCTTCTGG	25		
		IS30a F3-R3 P	6FAM- CATGAAGCGATTTATCAATACGTGTATGC	29			
	IS1111A	IS 1111 0706 F	CAAGAAACGTATCGCTGTGGC	21		154 pdb	
		confirmation	IS 1111 0706 R	CACAGAGCCACCGTATGAATC	21		
		IS1111 07-06 P	6FAM- CCGAGTTCGAAACAATGAGGGCTG	24			
<b>EHRlichIA</b>							
Anaplasma phagocytophilum	polA	A_ pha0001F	TTTGATTCGGGTCGAAAAA	20		121 pdb	
		1ère intention	A_ pha0001R	AACGTTCAACAGCCTCACG	20		
		A_ pha0001P	6FAM- TCGCCCTAAAGCACAGAGGATCTG	25			
	gatA	A_ pha0748F	CGCACTACCGCATGCTCTG	19		129 pdb	
A_ pha0748R		AGCCCATGGCAAATTCATCC	20				
A_ pha0748P		6FAM- TGCTTGCATGATGGGAAATTGAACA	26				
	orf 1395	A_ pha1395F	CAGAAGAACCAGCGGATA	20		138 pdb	
		A_ pha1395R	TCGACGTAGGTGAGCTGCAA	20			
		A_ pha1395P	6FAM- TGACCAAAAGATGCACATGGTGCACA	25			
Ehrlichia canis	taredoxin related	E_ can0701F	TGAGGCCATTAAGAATTCACAA	23		113 pdb	
		1ère intention	E_ can0701R	TGAAGCTCTCCACTGTGGTACATTT	25		
		E_ can0701P	6FAM- AGGTGATTTATTGGTGCACA	23			
	hyp. p.	E_ can0503F	CAGCAAATTCCAATCTGCATTC	23		146 pdb	
		E_ can0503R	GAGCTTCCAATTGATGGGTCTG	22			
		E_ can0503P	6FAM- TGTTATCTAATGCAAAAATCCCCGGA	27			
Neorickettsia sennetsu	gltA	gltA sennetsu F	GGTACAGCTAGTTTATGCGG	21		166 pdb	
		gltA sennetsu R	AGTTTTTATACACCCCTGTGCC	22			
		gltA sennetsu	6FAM- GCGCGTTAAAAGAAAAGAGAGAC	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.

## 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.