

RAPPORT ANNUEL

D'ACTIVITE 2024

CNR Rickettsia, Coxiella et Bartonella

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

Résumé analytique	4
Faits marquants	4
Executive summary	5
Highlights	5
1. Missions et organisation du CNR	6
1.1. Organigramme	6
1.2. Mission et Organisation	6
1.3. Démarche Qualité	6
2. Activités d'expertise	7
2.1. Evolution des techniques	7
2.2. Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse	7
2.3. Techniques transférées vers d'autres laboratoires	7
2.4. Collections de matériel biologique	7
2.5. Activités d'expertises	8
2.6. Activités de séquençage	9
2.7. Partage de séquences produites par les CNR	10
3. Activités de surveillance	11
3.1. Description du réseau de partenaires	11
3.1.1. 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
3.2. 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
3.3. Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	25
3.4. Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	26
3.5. Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	26
4. Alertes	27
5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil	28
5.1. Conseil et expertise aux professionnels de santé	28
5.2. Conseil et expertise aux autorités sanitaires	28
5.3. Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)	28
6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	29
6.1. Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	29
6.2. Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	30

6.2.1. Publications en lien avec les missions et activités du CNR	30
6.2.2. Communications dans les congrès internationaux	30
7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux	31
8. Programme d'activité pour les années suivantes	32
8.1. Démarche qualité	32
8.2. Activité de recherche en 2025	32
8.3. Activité d'expertise	32
Annexe 1 : Missions & organisation du CNR	33
1.1. Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	33
1.2. Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	33
1.3. Locaux et équipements	35
1.3.1. Les activités de sérologie et détection moléculaire du CNR (responsables PE. Fournier et F. Fenollar)	35
1.3.2. Les activités de culture du CNR (responsable B. La Scola)	36
1.3.3. Les plateformes techniques de l'IHU auxquelles le CNR a accès	36
1.3.4. Les principaux équipements	38
1.4. Collections de matériel biologique	40
1.4.1. Conservation sécurisée des souches bactériennes	40
1.4.2. Souchier de microorganismes fastidieux	41
1.5. Démarche qualité du laboratoire	45
Annexe 2 : Capacités techniques du CNR	46
2.1. Liste des techniques de référence	46
2.1.1. La sérologie	46
2.1.2. Détection moléculaire	47
2.1.3. Culture	48
2.1.4. Identification entomologique	49
2.2. Liste des techniques recommandées par le CNR	49
Annexe 3 : Autres informations (non destinées à être rendues publiques)	
3.1 Permanence du CNR	
3.2 Autorisations MOT	
3.3 Autorisations d'exercer la biologie médicale	
3.4 Résultats de recherches non encore publiés ou sous embargo	
3.5 Difficultés rencontrées par le CNR au cours de l'année N, y compris en termes de mise à disposition de la subvention versée par Santé publique France	
3.6 Liste des activités menées par le CNR en lien avec des entreprises ou établissements industriels ou commerciaux dont les produits entrent dans le champ d'expertise du CNR	
3.7 Autres remarques à destination du comité des CNR	
Annexe 4 : Recensement des collections de matériels biologiques (non destinées à être rendues publiques)	

RESUME ANALYTIQUE

Faits marquants

Résumé analytique des activités pour l'année 2024

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 2024, le personnel du CNR a été renouvelé en partie.

En 2024, le CNR a reçu **12385** échantillons de sérum (-5%) provenant de **9771** patients (-5%). Tous les sérums ont été testés pour la présence d'anticorps contre *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* sp. et *Bartonella* sp. De plus, **6744** échantillons biologiques divers (-12%) provenant de **6536** patients (+17%) ont été reçus pour culture et/ou détection moléculaire. Au total, le CNR a reçu des échantillons pour **13874** patients. Les échantillons de sérum étaient adressés comme demandes primaires dans **60.9%** des cas. En 2024, le CNR a diagnostiqué **63** nouveaux cas de fièvre Q aiguë (-16% par rapport à 2023), **70** nouveaux cas de fièvre Q persistante focalisée (-24% par rapport à 2023), **42** nouveaux cas de rickettsioses (-67% par rapport à 2023) et **76** nouveaux cas de bartonelloses (+17% par rapport à 2023).

En ce qui concerne la fièvre Q, nous avons observé en France métropolitaine une diminution du nombre de diagnostics de fièvre Q aiguë en 2024 (**63** vs **75** cas en 2023, -16%) et du nombre de diagnostics de formes focalisées de la fièvre Q (fièvre Q chronique), avec **70** cas en 2024 contre **92** en 2023 (-24%).

En Guyane française, le nombre de diagnostics de fièvre Q aiguë a diminué entre 2023 et 2024, passant de **8** à **6** cas (-25%).

Pour ce qui est des rickettsies, le nombre de diagnostics de rickettsioses faits au CNR a diminué, avec **42** diagnostics (vs **129** en 2023, -67%), dont **16** cas de fièvre boutonneuse méditerranéenne (*Rickettsia conorii*), **8** cas de Scalp Eschar and Neck Lymphadenopathy after Tick Bite (*R. raoultii* et *R. slovaca*), **15** cas d'African tick-bite fever (*R. africae*), **2** cas de Lymphangitis Associated Rickettsiosis (*R. sibirica mongolitimonae*) et **1** cas de typhus murin (*R. typhi*).

Au cours de l'année 2024, le nombre de cas d'infections à *Bartonella* a augmenté par rapport à 2023, avec **76** patients (vs **65** en 2023, +17%), dont **51** maladies des griffes du chat et **23** endocardites. Par rapport à 2023, le nombre de diagnostics de maladie des griffes du chat (**51** vs **46**, +11%) a augmenté, de même que le nombre de diagnostics d'endocardite (**23** vs **19**, +21%).

EXECUTIVE SUMMARY

Highlights

Analytical summary of activities for year 2024

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

In 2024, the FRC received **12,385** serum samples (-5% compared to 2023) from **9771** patients (-5%). All sera were tested for the presence of antibodies against *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* sp. and *Bartonella* sp. In addition, **6744** varied biological samples (-12%) from **6536** patients (+17%) were received for culture and / or molecular detection. Overall, the FRC received specimens for **13874** patients. Serum samples were sent as primary requests in **60.9%** of cases respectively. In 2024, the FRC diagnosed **63** new cases of acute Q fever (-16% compared to 2023), **70** new cases of persistent focused Q fever (-24%), **42** new cases of rickettsioses (-67%) and **76** new cases of bartonellosis (+17%).

Regarding Q fever, in mainland France we observed a decrease in the number of diagnoses of acute Q fever in 2024 (**63** vs **75** cases in 2023, -16%) and in the number of diagnoses of focalized forms of Q fever (chronic Q fever), with **70** cases in 2024 against **92** in 2023 (-24%).

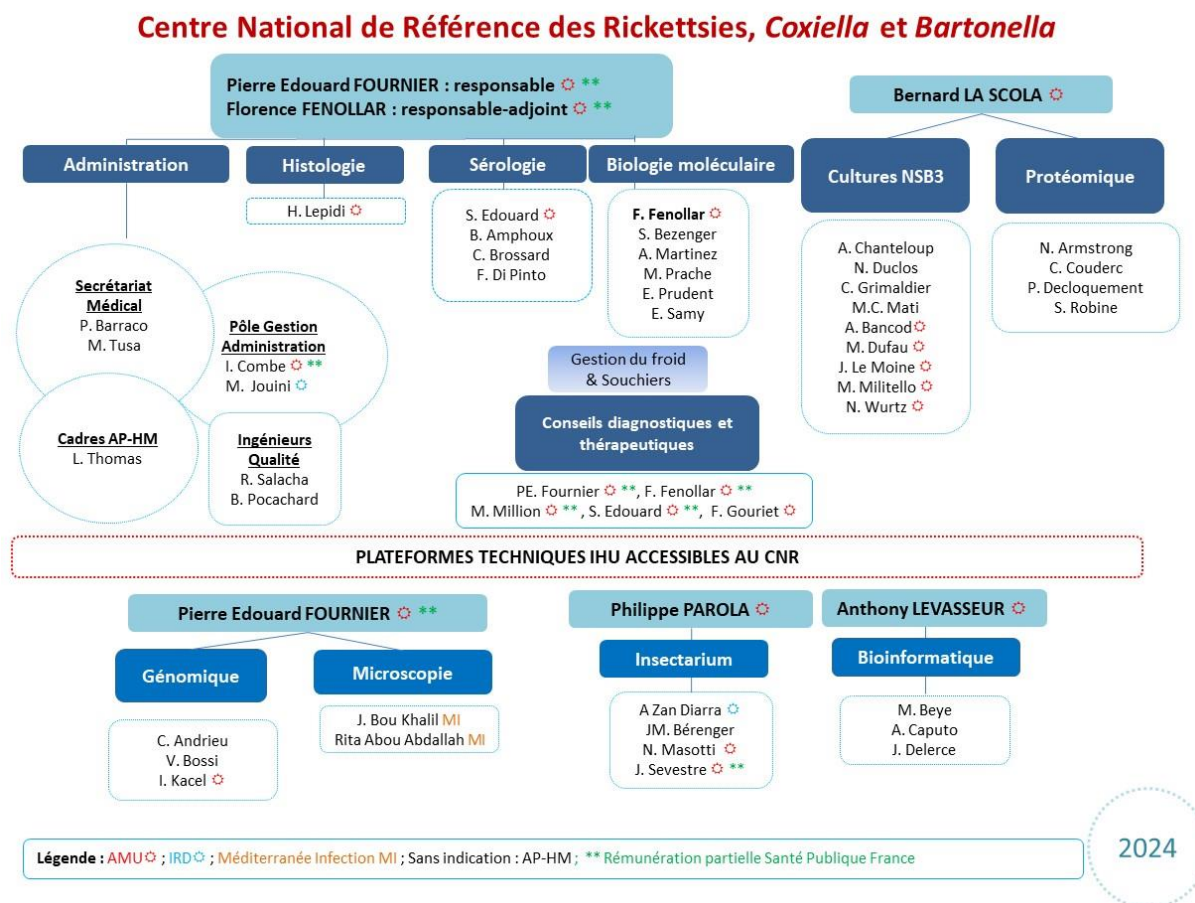
In French Guiana, the number of acute Q fever diagnoses decreased between 2023 and 2024, from **8** to **6** cases (-25%).

Regarding rickettsiae, the number of rickettsial diagnoses made at the FRC decreased, with **42** diagnoses (vs **129** in 2023, -67%), including **16** cases of Mediterranean spotted fever (*R. conorii*), **8** cases of Scalp Eschar and Neck Lymph-Adenopathy after Tick Bite (*R. raoultii* and *R. slovaca*), **15** cases of African tick-bite fever (*R. africae*), **2** cases of Lymphangitis Associated Rickettsiosis (*R. sibirica mongolitimonae*) and **1** case of murine typhus (*R. typhi*).

In 2024, the number of cases of *Bartonella* infections increased compared to 2023, with **76** patients (vs **65** in 2023, +17%), including **51** cat scratch diseases and **23** endocarditis. Compared to 2023, the numbers of cat scratch disease (**51** vs **46**, +11%) and endocarditis (**23** vs **19**, +21%) diagnoses increased.

1. Missions et organisation du CNR

1.1. Organigramme



1.2. Mission et Organisation

EN 2024, il n'y a pas eu d'évolution majeure dans l'organisation du CNR.

1.3. 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, 2022 et 2024. 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 2024

- * Plus de **19 000** échantillons cliniques reçus,
- * Plus de **100 000** analyses réalisées,
- * Isolement de 18 souches de *Coxiella burnetii*, d'1 souche de *Rickettsia massiliae* et d'1 souche de *Bartonella quintana*
- * Séquençage de 36 génomes de *Coxiella burnetii*, 49 de *Rickettsia* sp. et 2 de *Bartonella* sp.

2.1. Evolution des techniques

En 2024, le CNR a implémenté la microscopie électronique à balayage systématique pour le monitoring des cultures cellulaires de *C. burnetii*. A présent, toutes les souches de *Coxiella burnetii* cultivées au CNR font l'objet d'une évaluation de leur sensibilité à la doxycycline par cette méthode.

2.2. Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

En 2024, le CNR n'a pas testé de kit commercial. En revanche, en 2025, l'AP-HM va se doter du système de sérologie par chémluminescence indirecte VIRCLIA Lotus (Vircell, Espagne). Ce système random access étant à présent utilisé dans de nombreux centres hospitaliers, et proposant des kits de détermination des taux d'anticorps IgG et IgM contre *Bartonella henselae*, *Coxiella burnetii* et *Rickettsia conorii* ayant un marquage CE, le CNR procèdera à leur évaluation entre 2025 et 2026.

2.3. Techniques transférées vers d'autres laboratoires

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

2.4. Collections de matériel biologique

En 2024, le CNR a reçu 12385 échantillons de sérums et 6744 échantillons biologiques divers (sang, biopsies, liquides de ponctions, arthropodes ...). De plus, 18 souches de *Coxiella burnetii*, 1 souche de *Rickettsia massiliae* et 1 souche de *Bartonella quintana* ont été cultivées.

2.5. Activités d'expertises

Echantillons		Type d'analyses réalisées
Type	Nombre	
Souches	0	
Sérums France	11162	SEROLOGIES
Etranger	1223	<u>Antigènes testés pour tout sérum</u> : <i>Rickettsia conorii</i>, <i>R. typhi</i>, <i>Coxiella burnetii</i>, <i>Bartonella henselae</i>, <i>B. quintana</i>, <i>Anaplasma phagocytophilum</i>, <i>Francisella tularensis</i> + <u>Antigènes testés en plus si patient infecté en Europe et bassin méditerranéen</u> : <i>R. slovaca</i>, <i>R. massiliae</i>, <i>R. aeschlimannii</i>, <i>R. helvetica</i>, <i>R. raoultii</i>, <i>R. sibirica mongolitimonae</i> Ou + <u>Antigènes testés en plus si patient infecté en Afrique sub-saharienne</u> : <i>R. africae</i> Ou + <u>Antigènes testés en plus si patient infecté en Asie</u> : <i>R. sibirica mongolitimonae</i>, <i>R. japonica</i>, <i>R. honei</i>, <i>Orientia tsutsugamushi</i> (souches gilliam et Kawazaki), <i>Neorickettsia sennetsu</i> Ou + <u>Antigènes testés en plus si patient infecté en Amérique</u> : <i>R. rickettsii</i>, <i>R. parkeri</i> Ou + <u>Antigènes testés en plus si patient infecté en Australie</u> : <i>R. australis</i>, <i>R. honei</i>
Autres types de prélèvements		PCR
France	6652	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	92	
		CULTURE CELLULAIRE
		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

2.6. Activités de séquençage

Le CNR a accès à plateforme de séquençage génomique de l'IHU qui est spécialisée dans le séquençage génomique à haut débit des bactéries intra-cellulaires et des virus. En 2024, 36 souches de *Coxiella burnetii*, 49 souches de *Rickettsia* et 2 souches de *Bartonella* ont fait l'objet d'un séquençage génomique.

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

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

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

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

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

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

En 2024, le CNR a poursuivi l'investigation de cas de fièvre Q dans la région de Saint-Mitre-les-Remparts (Bouches-du-Rhône) débutée en 2022 et pour lesquels deux fermes avaient été suspectées comme étant la source de l'infection. Au total, 12 cas de fièvre Q ont été diagnostiqués entre 2022 et 2024, dont 4 ont eu un lien formel avec l'une des fermes et 3 sont domiciliés à proximité de la seconde. Toutefois, la fièvre Q ayant une incidence élevée dans la région de Martigues, et aucune enquête vétérinaire n'ayant été conduite dans les deux fermes suspectes, il n'est pas possible de les considérer comme source des cas.

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Nombres de séquences réalisées dans l'année : 36 génomes de *Coxiella burnetii*, 49 génomes de *Rickettsia* et 2 génomes de *Bartonella*.

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

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

Dans les bases de données fermées :

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

2.7. Partage de séquences produites par les CNR

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

3. Activités de surveillance

ÉLÉMENTS CLEFS DE L'ANNÉE 2024

En 2024, le CNR des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* a reçu **12385** échantillons de sérum provenant de **9771** patients. Tous les sérums ont été testés pour la présence d'anticorps contre *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* sp. et *Bartonella* sp. De plus, **6744** échantillons biologiques divers provenant de **6536** patients ont été reçus pour culture et/ou détection moléculaire. Les échantillons de sérum étaient adressés comme demandes primaires dans **60.9%** des cas. En 2024, le CNR a diagnostiqué **63** nouveaux cas de fièvre Q aiguë (-16% par rapport à 2023), **70** nouveaux cas de fièvre Q persistante focalisée (-24% par rapport à 2023), **42** nouveaux cas de rickettsioses (-67% par rapport à 2023) et **76** nouveaux cas de bartonelloses (+17% par rapport à 2023).

En ce qui concerne la fièvre Q aiguë, nous avons observé en France métropolitaine une diminution du nombre de diagnostics de fièvre Q aiguë en 2024 (**55** vs **68** cas en 2023, -19.1%).

En Guyane française, le nombre de diagnostics de fièvre Q aiguë a diminué entre 2023 et 2024, passant de **8** à **6** cas (-25%).

Pour ce qui est des rickettsies, le nombre de diagnostics de rickettsioses faits au CNR a diminué, avec **42** diagnostics (vs **129** en 2023, -67%), dont **16** cas de fièvre boutonneuse méditerranéenne (*Rickettsia conorii*), **8** cas de Scalp Eschar and Neck Lymph-Adenopathy after Tick Bite (*R. raoultii* et *R. slovaca*), **15** cas d'African tick-bite fever (*R. africae*), **2** cas de Lymphangitis Associated Rickettsiosis (*R. sibirica mongolitimonae*) et **1** cas de typhus murin (*R. typhi*).

Au cours de l'année 2024, le nombre de cas d'infections à *Bartonella* a augmenté par rapport à 2023, avec **76** patients, dont **51** maladies des griffes du chat et **23** endocardites. Par rapport à 2023, le nombre de diagnostics de maladie des griffes du chat (**51** vs **46**, +11%) a augmenté, de même que le nombre de diagnostics d'endocardite (**23** vs **19**, +21%).

3.1. Description du réseau de partenaires

Le CNR a de nombreux partenaires aussi bien en France qu'à l'étranger. La liste des partenariats et correspondants étrangers figure plus loin dans ce rapport. Sur le plan national, il n'existe pas de partenariat institutionnalisé mais le CNR collabore de façon durable avec des laboratoires répartis sur l'ensemble du territoire. Le CNR fournit notamment des antigènes et des sérums contrôles positifs aux laboratoires des CHU de Lyon (Pr. VANDENESCH), Paris (HEG, Pr. MAINARDI; Henri Mondor, Pr WOERTHER), Strasbourg (Pr. JAULHAC), Tours (Pr. MEREGHETTI) et du CHG d'Aix en Provence (Dr. BRIEU) ainsi qu'à l'étranger (Argentine, Belgique, Espagne, Grèce, Hongrie, Russie, Slovaquie, Suisse, Taiwan...).

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

3.1.1. Collaborations avec l'ECDC

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

3.1.2. Coopérations institutionnelles

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

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

Centres collaborateurs OMS sur les rickettsioses

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

Collaborations internationales autres

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

3.1.3. Collaborations avec les pays étrangers

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

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

Les collaborateurs étrangers du CNR comportent notamment :

Pays	Correspondant	Ville
Europe		
Belgique	Dr Steven Van Den Broucke	Anvers
	Dr Monny Hing	Bruxelles
Brésil	Dr Adriano Pinter	Sao Paolo
	Dr Cristiane Lamas	Rio de Janeiro
Espagne	Pr Jose Oteo	Logrono
Grande Bretagne	Pr Richard Birtles	Manchester
Grèce	Dr Emmanouil Angelakis	Athènes
	Pr Achilleas Gikas	Heraklion
Italie	Dr Laura Franzin	Turin
Norvège	Pr Mogens Jensenius	Oslo
Portugal	Dr Anna Santos	Lisbonne
	Dr Rita de Sousa	Lisbonne
Russie	Pr Stanislav Shpynov	Omsk
Slovaquie	Dr Zuzana Sekeyova	Bratislava
Suisse	Pr Gilbert Greub	Lausanne
	Dr Alexis Dumoulin	Sion
Maghreb		
Algérie	Dr Idir Bitam	Alger
	Dr Kheira Mokrani	Batna
	Pr Najet Mouffok	Oran
Maroc	Pr Rachid Saïle	Casablanca
	Dr Nadia Boudebouch	Casablanca
Tunisie	Pr Amel Letaïef	Sousse
	Dr Abir Znazen	Sfax
Asie		
Japon	Pr Hisachi Inokuma	Obihiro
Laos	Pr Paul Newton	Vientiane
Thaïlande	Dr Yupin Supputamongkol	Bangkok
	Pr George Watt	Bangkok
Océanie		
Australie	Pr Stephen Graves	Victoria
	Pr John Stenos	Geelong
Guyane française	Dr Didier Musso	Cayenne
	Pr Loïc Epelboin	Cayenne
Amériques		
Canada	Pr Thomas J. Marrie	Halifax
Saint Kitts/Nevis	Pr Patrick Kelly	Basseterre
USA	Dr Christopher D Paddock	Atlanta
	Pr Marina Eremeeva	Atlanta
	Pr Stephen J Dumler	Baltimore

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

Le CNR des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* a résigné en 2021 une convention de coopération scientifique avec le laboratoire d'études et de recherches sur la pathologie des petits ruminants et des abeilles, dépendant de l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail. Ce laboratoire, situé à Sophia-Antipolis, est Laboratoire National de Référence (LNR) pour la fièvre Q en santé animale depuis décembre 2009. A ce titre et dans le cadre d'un groupe de travail avec la direction générale de l'alimentation (DGAL), il participe à la mise en place un réseau pilote des laboratoires départementaux d'analyse chargés du diagnostic de cette pathologie.

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

Le CNR et le LNR ont débuté en 2016 une collaboration scientifique sur l'étude génomique comparée des souches humaines et animales de *Coxiella burnetii*. Celle étude au long cours s'est poursuivie en 2024, avec l'obtention d'un financement de l'Infectiopôle Sud pour un thésard en co-tutelle CNR-LNR.

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

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

Origine des prélèvements

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

3.2.2. Diagnostic de la fièvre Q

En 2023, 12385 échantillons de sérum provenant de 9771 patients ont été testés au CNR pour la présence d'anticorps contre *C. burnetii* contre 13086 prélèvements de 10267 patients en 2023 (-5%). De plus, nous avons reçu 6744 échantillons divers (sang, biopsies ganglionnaires, valves cardiaques, biopsies vasculaires, osseuses, ...) de 6536 patients (contre 7715 échantillons de 5570 patients en 2023, -12%) pour diagnostic moléculaire et culture.

A. Diagnostic sérologique

Au total, **411** patients se sont révélés positifs en IgG ($\geq 1:100$) et/ou IgM ($\geq 1:50$). **Soixante-trois** nouveaux cas de fièvre Q aiguë ont été diagnostiqués en 2024 contre **75** (-16%) en 2023, et **70** nouveaux cas de fièvre Q

persistante focalisée contre **92** (-24%) en 2023. Enfin, **278** patients présentaient une cicatrice sérologique de fièvre Q ancienne ou un profil de fièvre Q persistante focalisée diagnostiquée avant 2024.

B. Diagnostic par biologie moléculaire

Soixante-quinze prélèvements cliniques de **48** patients se sont révélés positifs pour *C. burnetii* en détection moléculaire.

C. Diagnostic par culture

En outre, **18** souches de *Coxiella burnetii* ont été isolées en culture cellulaire de biopsies de valves cardiaques (9), de biopsies d'anévrisme de l'aorte (3), et d'échantillon de sang EDTA (6).

D. Fièvres Q aiguës

Le nombre de patients atteints de fièvre Q aiguë en 2024 et pour lesquels le CNR a reçu des prélèvements était de **63** répartis en **55** patients en France métropolitaine, **6** patients en Guyane française et **2** patients en Italie. L'incidence de la fièvre Q aiguë en France (métropole et départements d'Outre-Mer) calculée à partir des diagnostics obtenus au CNR en 2024 est de **0.09** pour 100.000 personnes, en légère hausse par rapport à 2023 (0.08). Ce taux d'incidence est un taux minimum qui sous-estime la réalité puisque la maladie n'est pas à déclaration obligatoire. Parmi les **55** patients atteints de fièvre Q aiguë contractée en France métropolitaine, **4 (76.4%)** étaient de sexe masculin (sex ratio M/F 3.2). L'âge moyen des patients atteints de fièvre Q était de **51.0 +/- 15.8** ans. Le plus jeune patient atteint de fièvre Q aiguë avait 10 ans, et le plus âgé 84 ans. **Quarante-deux** des 63 patients atteints de fièvre Q aiguë présentaient une hépatite fébrile (66.7%), **12** une pneumonie (12.7%), **13** une fièvre isolée (20.6%) et **1** une endocardite aiguë (1.6%) (Tableau 3).

Tableau 3 : Données démographiques des cas de fièvre Q aiguë diagnostiqués au CNR en 2024

Forme Clinique	Nombre	Age moyen +/- écart-type	Sex ratio M/F
Hépatite	42	50.8 +/- 14.9	2.8
Pneumonie	12	59.1 +/- 14.6	12/0
Fièvre isolée	13	51.9 +/- 17.6	3.3
Endocardite aiguë	1	76*	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 2024 montre un pic de mai à octobre (74.5%), prolongeant de deux mois la période de plus forte incidence constatée de 2021 à 2023 (Figure 1). La répartition géographique des cas métropolitains de fièvre Q en 2024 est présentée dans la Figure 2. La majorité des nouveaux cas de fièvre Q aiguë (52.7%) a été diagnostiquée dans la région Provence–Alpes–Côte d'Azur (PACA), suivie par les régions Occitanie (16.4%) et Nouvelle Aquitaine (10.9%).

Outre-mer, la Guyane est la région française où la fièvre Q a la plus forte incidence, avec **6** nouveaux cas de fièvre Q aiguë diagnostiqués en 2024 (Figure 3), soit une incidence pour 100.000 habitants de **1.8**, en diminution par rapport à l'année 2023 (2.5). Parmi les 6 patients atteints de fièvre Q aiguë contractée en Guyane, 4 (**66.7%**) étaient de sexe masculin (sex ratio M/F 2.0). L'âge moyen des patients atteints de fièvre Q était de **52.2 +/- 12.4** ans. Le plus jeune patient atteint de fièvre Q aiguë avait 34 ans, et le plus âgé 71 ans. Au plan clinique, la fièvre Q en Guyane s'est manifestée en 2024 en majorité par une pneumonie interstitielle fébrile (4 patients, 66.7%), suivie d'1 cas d'hépatite fébrile (16.7%) et d'1 cas de fièvre isolée (16.7%), ce qui diffère significativement à nouveau de la fièvre Q aiguë en métropole ($p < 10^{-2}$).

Enfin, le CNR a diagnostiqué 2 cas de fièvre Q aiguë contractés en Italie.

Figure 1. Répartition annuelle des cas de fièvre Q aiguë diagnostiqués par le CNR en 2024 en France métropolitaine, par mois de diagnostic

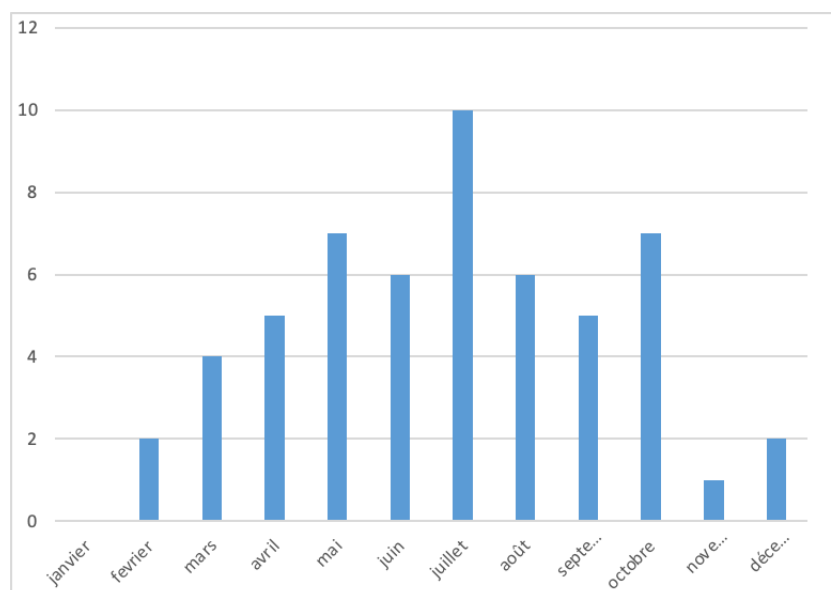


Figure 2. Répartition géographique des cas de fièvre Q aiguë diagnostiqués par le CNR en France métropolitaine en 2024

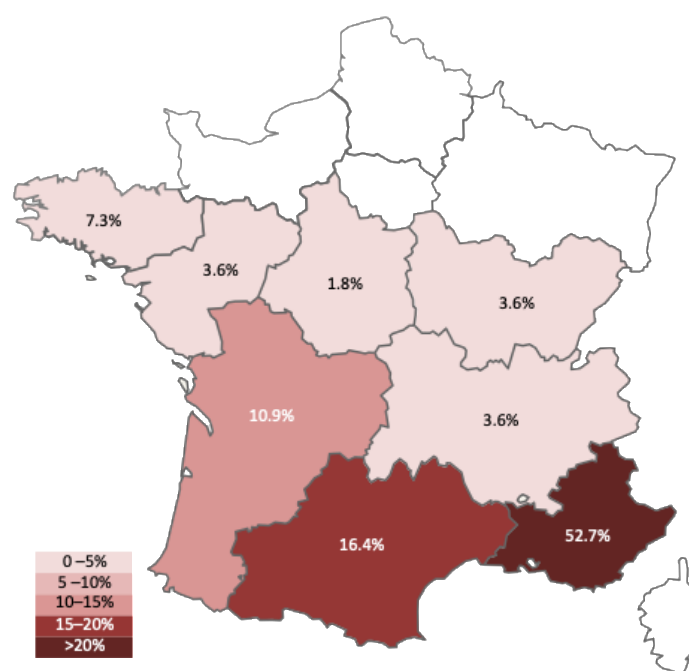
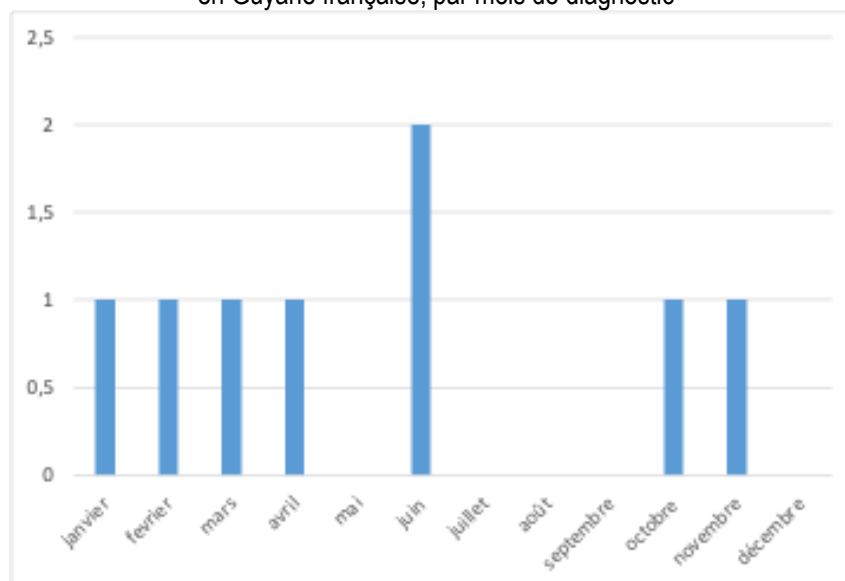


Figure 3. Répartition annuelle des cas de fièvre Q aiguë diagnostiqués par le CNR en 2024 en Guyane française, par mois de diagnostic



E. Epidémies de fièvre Q aiguë en France en 2024

Aucune épidémie de fièvre Q n'a été détectée par le CNR, ou signalée au CNR, en 2024.

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

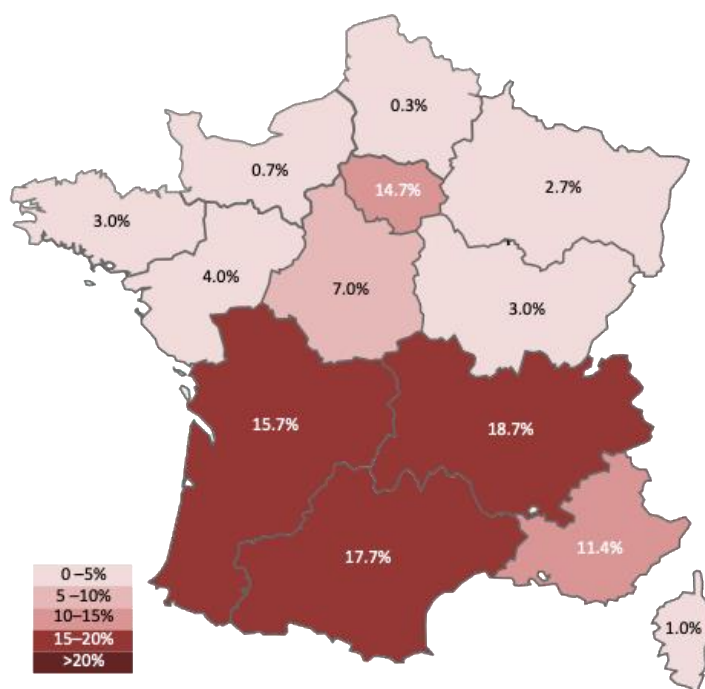
Soixante-dix nouveaux cas d'infection persistante focalisée à *C. burnetii* (fièvre Q chronique) ont été diagnostiqués par le CNR en 2024 contre **92** en 2023 (-23.9%). Parmi ces patients, le sex ratio H/F était de **3.7** (55/15) et l'âge moyen était de **68.1 +/- 14.3** ans. Parmi les 70 patients diagnostiqués comme ayant une infection focale à *C. burnetii* **32** avaient une endocardite (45.7%), **29** une infection vasculaire (41.4%), **4** une infection ostéo-articulaire (5.7%), **2** d'hépatites chroniques (2.8%), **1** une myocardite (1.4%), **1** un abcès splénique (1.4%) et **1** un syndrome de fatigue chronique (1.4%). Les patients atteints d'infections vasculaires présentaient un âge plus élevé que ceux présentant une endocardite (70.0 +/- 9.0 ans vs 65.0 +/- 18.0 ans). Concernant l'origine des patients présentant une forme persistante focalisée de fièvre Q en France métropolitaine, les régions PACA (14 cas), Nouvelle Aquitaine (10 cas) et Auvergne-Rhône-Alpes (10 cas) étaient celles où les plus grands nombres de cas étaient diagnostiqués.

G. Données fièvre Q 2024 du PMSI

Aucune des maladies surveillées par le CNR des rickettsioses, de la fièvre Q et des bartonelloses n'étant à déclaration obligatoire en dehors du typhus épidémique (dont aucun cas n'a été diagnostiqué en 2024), les données du CNR ne reflètent que partiellement leur épidémiologie au niveau national. L'enquête réalisée auprès de 40 laboratoires de microbiologie de CHU en 2022 n'ayant pas été contributive en termes de complétion des données nationales, nous avons en 2024, comme en 2022 et 2023, analysé les données fièvre Q disponibles dans le PMSI. Ces données ont été extraites par le département d'information médicale du CHU de Marseille.

Pour la fièvre Q, le code A78 (diagnostic de fièvre Q) a été utilisé et a permis de détecter **311** patients ayant bénéficié d'un séjour hospitalier (y compris en consultation). Ce nombre est proche de celui obtenu en 2023 (328) et 2022 (324 patients). La répartition géographique de ces patients est relativement similaire à celle observée à partir des données du CNR en ce qui concerne les régions Auvergne-Rhône-Alpes, Nouvelle-Aquitaine, Occitanie et Provence-Alpes-Côte d'Azur qui sont les premières en nombres de cas (Figure 4). En revanche, la répartition observée ci-dessous diffère car des cas ont été détectés dans toutes les régions de France, et la région Ile-de-France arrive en quatrième position.

Figure 4. Répartition géographique des proportions de cas métropolitains de fièvre Q extraits du PMSI en 2024



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

Parmi les **311** cas de fièvre Q extraits du PMSI pour 2024, il a été possible d'identifier **41** cas d'endocardite (vs 48 en 2023), **22** infections vasculaires (vs 34 en 2023), **11** hépatites (vs 9 en 2023), **5** pneumonies (vs 5 en 2023), **0** myocardites (vs 2 en 2023) et **3** méningites (vs 2 en 2023). Parmi ces diagnostics, **63** sont cas de fièvre Q focalisée (endocardites et infections vasculaires, vs 82 en 2023). On peut donc estimer que le nombre de cas de fièvre Q aiguë codés dans le PMSI en 2023 était de 248 (vs 246 en 2023), soit plus de quatre fois plus que le nombre de cas répertoriés par le CNR. De plus, les formes aiguës de fièvre Q étant souvent polymorphes et bénignes, ou d'évolution rapidement favorable sous doxycycline, il est probable que de nombreux cas ne soient pas répertoriés dans le PMSI.

En revanche, les données PMSI concernant les formes focalisées de fièvre Q, plus sévères et nécessitant souvent une prise en charge hospitalière, reflètent probablement plus fidèlement l'incidence de ces infections. Les 41 cas d'endocardite et 22 cas d'infections vasculaires sont proches des 32 endocardites et 29 infections vasculaires répertoriées par le CNR. En revanche, le CNR a détecté 9 cas d'autres formes de fièvre Q focalisée, dont 4 infections ostéo-articulaires, 1 myocardite chronique, 1 hépatite chronique, 1 abcès splénique et 1 syndrome de fatigue chronique.

Les données 2024 confirment celles de 2023 et 2022 : les données du CNR sous-estiment l'incidence des formes aiguës de fièvre Q mais sont proches de celles des formes focalisées de la maladie.

3.2.3. Diagnostic des Rickettsioses

En 2024, 42 cas de rickettsioses ont été diagnostiqués au CNR contre 129 en 2023 (-67%).

A. Diagnostic sérologique

Parmi les **9971** patients testés, un diagnostic de rickettsiose a été porté chez **42** patients (Figure 4). La réduction importante du nombre de diagnostics (-67% par rapport à 2023) est liée au fait que le laboratoire CERBA a transmis au CNR moins de sérums de patients suspects de rickettsiose au Maroc. Le CNR a détecté **16 cas de FBM**, **8 cas de Scalp Eschar and Neck Lymph-Adenopathy after Tick Bite** (SENLAT, *R. slovaca* [6], *R. raoultii* [2]), **15 cas d'African tick-bite fever** (ATBF, *R. africae*), **2 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 5.

B. Diagnostic par biologie moléculaire

Huit cent quatre-vingt-dix patients ont fait l'objet d'une détection moléculaire. **Trente-huit** (4.2%) de ces patients se sont révélés positifs. La nature des prélèvements les plus fréquemment positifs étaient les écouvillons d'escarre (55%), les biopsies cutanées d'escarre (37%), et les échantillons de sérum (7.8%).

C. Diagnostic par culture

Une souche de *Rickettsia massiliae* a été isolée d'une culture cellulaire à partir d'un *Rhipicephalus sanguineus* prélevé sur un patient de 13 ans asymptomatique.

D. Répartition des cas de rickettsioses diagnostiqués

Les cas de FBM ont été contractés en majorité en été, en France métropolitaine (PACA, 5 cas), Algérie, Espagne, Grèce, Maroc et Portugal (Figure 4, Tableau 4), qui sont des régions endémiques pour cette rickettsiose associée à la tique brune du chien, *Rhipicephalus sanguineus*. Les 8 patients présentant un tableau de SENLAT sont issus des régions suivantes : Auvergne-Rhône-Alpes, PACA, Occitanie et Pays de la Loire. La maladie, transmise par des tiques du genre *Dermacentor*, a été majoritairement contractée de février à juin. Les 15 cas d'ATBF ont été contractés lors de la visite de parcs animaliers en Afrique du sud (11), au Mozambique (1), au Kenya (1) et au

Zimbabwe (2). La maladie est endémique et transmise par les tiques du genre *Amblyomma*. Les 2 patients présentant une LAR ont été infectés en régions Occitanie (1) et PACA (1). Les cas sont survenus en avril et juin (Figure 4). Le cas de typhus murin a été contractés en Indonésie en août.

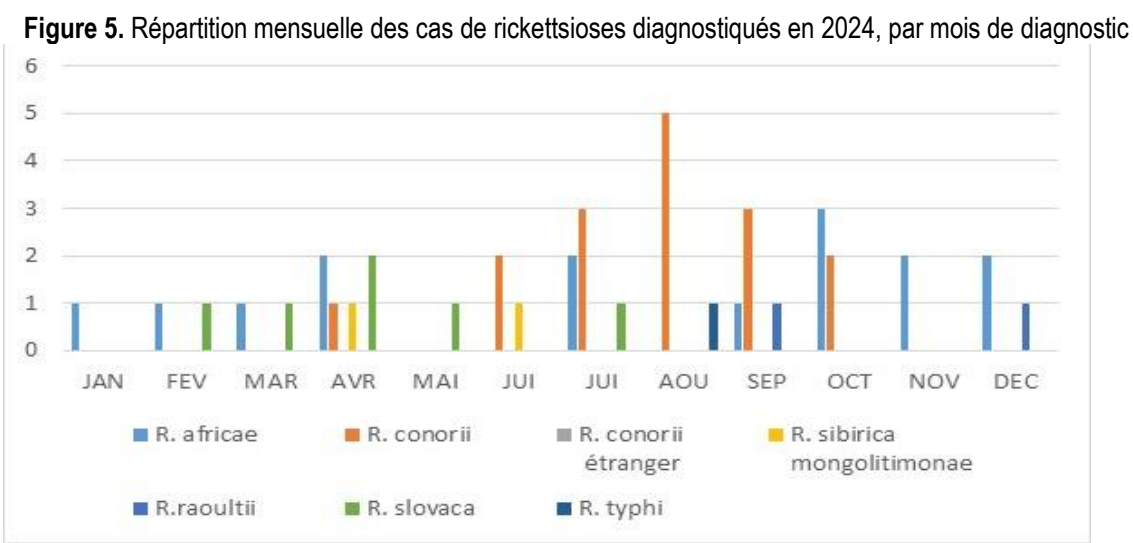


Tableau 4. Caractéristiques des patients chez lesquels un diagnostic de rickettsiose a été posé en 2024 (N = 42)

Infection	Sex ratio H/F	Age moyen, déviati standard	Lieu de piqûre
Fièvre boutonneuse méditerranéenne	9/7	50 +/- 20	PACA, Algérie, Espagne, Grèce, Maroc, Portugal
SENLAT	5/3	41 +/- 28	Auvergne-Rhône-Alpes, PACA, Occitanie, Pays de la Loire
African tick-bite fever	10/5	52 +/- 14	Afrique du Sud, Kenya, Mozambique, Zimbabwe
Lymphangitis Associated Rickettsiosis	1/1	77 +/- 1	Occitanie, PACA
Typhus murin	1/0	52	Indonésie

E. Données rickettsioses 2024 du PMSI

Les codes A77 et A79 (diagnostic de rickettsiose) ont été utilisés et ont permis de détecter **118** patients ayant bénéficié d'un séjour hospitalier (y compris en consultation). Ce nombre est supérieur de 180% à celui des diagnostics obtenus par le CNR. Toutefois, il, est difficile de comparer les deux jeux de données. En effet, les codes PMSI ne permettent pas de discriminer toutes les rickettsioses comme le fait le CNR. De plus, de nombreux cas de rickettsioses étant contractés par les patients à l'occasion de déplacements en zones d'endémies, la répartition des diagnostics telle qu'elle est répertoriée dans le PMSI, par région d'hospitalisation, n'est pas nécessairement corrélée au lieu de contamination, et donc à l'espèce de *Rickettsia* en cause. En témoignent les 19 cas de rickettsiose répertoriés en Ile de France, région dans laquelle il n'y a pas de rickettsiose endémique.

3.2.4. Diagnostic des Bartonelloses

En 2024, **76 cas d'infections à *Bartonella* sp.** ont été diagnostiqués au CNR, contre **65** en 2023 (+17%). **Cinquante-et-un** de ces patients étaient atteints de **maladie des griffes du chat (MGC)**. Un diagnostic d'**endocardite** a été porté chez **23** patients : à *B. henselae* (**14** patients) et *B. quintana* (**9** patients).

A. Diagnostic sérologique

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

B. Diagnostic par biologie moléculaire

Mille vingt-deux patients ont fait l'objet d'une détection moléculaire. **Soixante-et-onze** (6.9%) de ces patients se sont révélés positifs. La nature des prélèvements les plus fréquemment positifs étaient les biopsies ganglionnaires d'escarre (72%).

C. Diagnostic par culture

Une souche de *Bartonella quintana* a été isolée d'une culture à partir d'une biopsie de valve cardiaque.

D. Maladie des griffes du chat

Un diagnostic de maladie des griffes du chat (MGC) a été porté chez 51 patients (Figure 6). L'âge moyen des patients atteints de MGC était de 30 +/- 20 ans et leur sex ratio de 1.04 (26 hommes/25 femmes). La Figure 6 montre la répartition des cas de MGC en fonction du mois de diagnostic avec une forte saisonnalité, déjà observée au cours des années précédentes : 88.0% des cas sont diagnostiqués d'octobre à mai. La répartition géographique des cas de MGC (Figure 7) montrait une prédominance des cas dans l'ouest de la France. La région Nouvelle Aquitaine arrivait en tête avec 28.0%, suivie par les régions Pays de la Loire (22.0%) et PACA (14.0%). Il est à noter que la Nouvelle Aquitaine est, année après année, la première région en nombre de cas de MGC.

Figure 6. Répartition temporelle des cas de maladies des griffes du chat en 2024, par mois de diagnostic

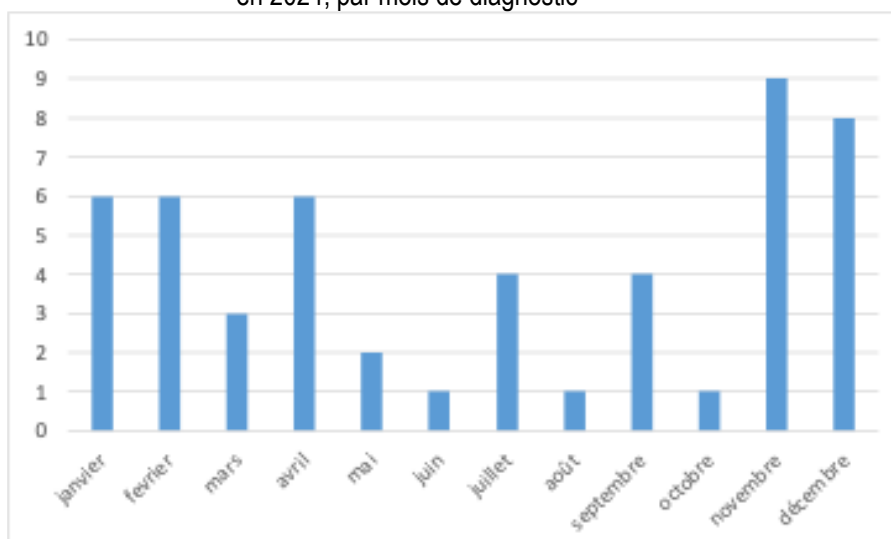
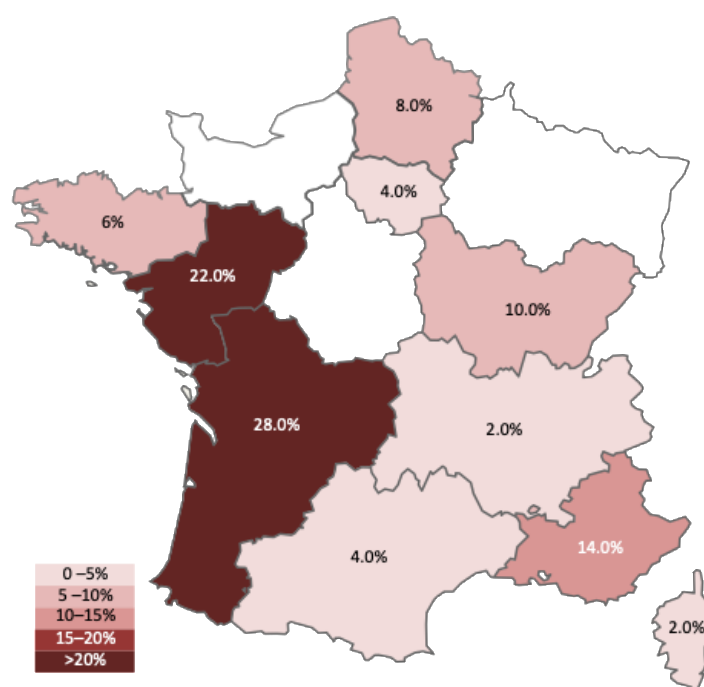


Figure 7. Répartition géographique des cas de maladie des griffes du chat diagnostiqués par le CNR en France en 2024



E. Autres bartonelloses

Le Tableau 5 montre les autres diagnostics de bartonelloses établis par le CNR ainsi que les caractéristiques des patients. Un diagnostic d'endocardite à *B. henselae* a été porté chez **14** patients et à *B. quintana* chez **9** patients.

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

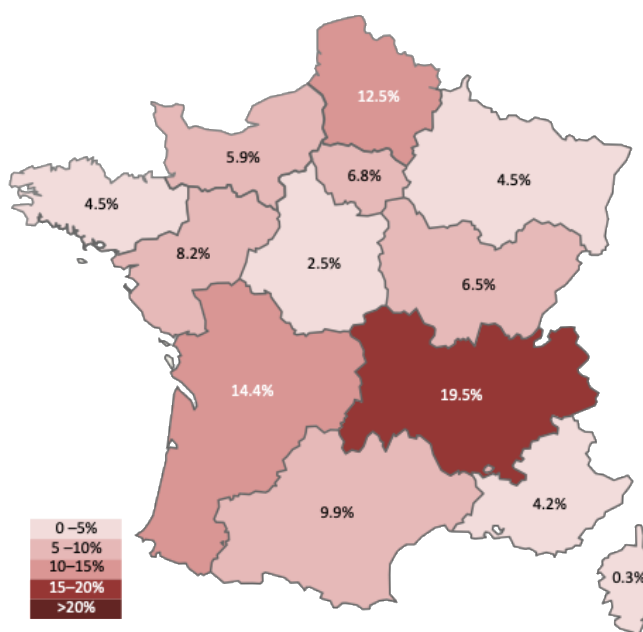
infection		Nombre de cas	Sex ration H/F	Age moyen, déviati on standard	Région d'origine
Endocardite <i>henselae</i>	à <i>B.</i>	14	9/5	56.0+/- 18.0	Auvergne-Rhône-Alpes, Bourgogne-Franche-Comté, Bretagne, Île de France, Nouvelle Aquitaine, Pays de la Loire, La Réunion, Grande-Bretagne
Endocardite <i>quintana</i>	à <i>B.</i>	9	6/3	49.0+/- 17.0	Île de France, Normandie, Nouvelle Aquitaine, PACA, Pays de la Loire, Mayotte, La Réunion
Pélio se hépatique à <i>B. henselae</i>		2	1/1	59, 87	Grand-Est, Guyane

Le code A44 (bartonellose) ont été utilisés et a permis de détecter **524** patients ayant bénéficié d'un séjour hospitalier (y compris en consultation). Ce nombre est près de 7 fois supérieur à celui des diagnostics obtenus par le CNR (**76**). En utilisant le code A281 « maladie des griffes du chat », qui est la cause la plus fréquente d'adénopathie bénigne, il a été possible d'identifier 353 cas de maladies des griffes du chat dans le PMSI. Ces cas se répartissent sur l'ensemble du territoire métropolitain, à la différence des prélèvements analysés par le CNR (Figure 8). De plus, 3 cas ont été répertoriés dans les DOM-TOM. La répartition des cas par région est superposable à celle de 2023, avec trois régions sur-représentées : Auvergne-Rhône-Alpes, Nouvelle Aquitaine et Occitanie.

En croisant les codes A44 (*Bartonella*) et I330, I339, I390, I1391, I1392, I1393, I1394, I1398 (endocardite), 38 patients ont été identifiés. Toutefois, il n'est pas clair s'il s'agit exclusivement de nouveaux cas d'endocardites à *Bartonella* diagnostiqués en 2024 ou s'il s'agit d'un mélange de nouveaux patients et de patients diagnostiqués précédemment et faisant l'objet d'un suivi post-thérapeutique.

En conclusion, les données du CNR sous-estiment considérablement l'incidence de la maladie des griffes du chat, maladie d'évolution le plus souvent spontanément résolutive et répartie sur l'ensemble du territoire métropolitain ainsi que dans les DOM-TOM, et pour laquelle la plupart des centres hospitaliers et groupements de laboratoires privés disposent de moyens diagnostiques spécifiques. En revanche, le nombre d'endocardites à *Bartonella* déclarées au PMSI est proche de celui diagnostiqué ou confirmé par le CNR.

Figure 8. Répartition géographique des cas de maladie des griffes du chat extraits du PMSI en 2024



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

Les bactéries des genres *Rickettsia* et *Bartonella*, soumises à peu de pression de sélection, n'ont pas développé

de résistance aux anti-infectieux. En revanche, la description dans la littérature scientifique de quelques souches de *Coxiella burnetii* de sensibilité diminuée à la doxycycline a motivé la recherche systématique des mutations décrites par le séquençage du génome complet de toutes les souches cultivées, et par PCR-séquençage ciblé des souches des patients pour lesquels la souche n'est pas cultivée et la maladie semble échapper au traitement. De plus, la détermination de la CMI des souches cultivées à la doxycycline et des dosages sériques réguliers de taux de doxycycline sont réalisés chez les patients suivis et traités. Une méthode d'évaluation de la sensibilité des souches de *Coxiella burnetii* à l'hydroxychloroquine a été mise au point par le CNR en 2017. Toutefois, cette méthode étant lente et fastidieuse, en 2024, le CNR a débuté la mise au point d'une méthode d'évaluation de la sensibilité des souches de *Coxiella burnetii* à la doxycycline par microscopie électronique à balayage dans le cadre d'une collaboration avec la société Hitachi. Cette méthode est basée sur une culture axénique des souches, et fait l'objet du développement d'un système de reconnaissance d'image par intelligence artificielle.

3.4. Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

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

3.5. Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

En 2024, le CNR n'a pas détecté ou été informé de situation de cas groupés de fièvre Q.

Toutefois, le CNR a poursuivi en 2024 l'investigation de cas de fièvre Q dans la région de Saint-Mitre-les-Remparts (Bouches-du-Rhône) débutée en 2022 et pour lesquels deux fermes avaient été suspectées comme étant la source de l'infection. Au total, 12 cas de fièvre Q ont été diagnostiqués entre 2022 et 2024, dont 4 ont eu un lien formel avec l'une des fermes et 3 sont domiciliés à proximité de la seconde. Toutefois, la fièvre Q ayant une incidence élevée dans la région de Martigues, et aucune enquête vétérinaire n'ayant été conduite dans les deux fermes suspectes, il n'est pas possible de les considérer comme source des cas.

4. Alertes

En 2024, le CNR n'a pas produit d'alerte en lien avec les pathologies et pathogènes qu'il surveille.

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

5.1. Conseil et expertise aux professionnels de santé

L'IHU Méditerranée Infection organise chaque semaine un séminaire de microbiologie clinique au cours duquel les titulaires du CNR et les internes en formation présentent des cas cliniques et la bibliographie qui s'y rapporte. Ces séminaires sont ouverts aux professionnels de santé, hors CHU qui souhaitent y participer. Chaque semaine, deux réunions organisées les lundi et vendredi matin, avec l'ensemble des personnels concernés, permet de présenter tous les diagnostics faits par le CNR. A l'issue de cette réunion, les professionnels de santé ayant adressé des échantillons qui se sont révélés positifs sont informés par téléphone ou courriel. En 2024, le CNR a reçu 4 stagiaires venus se former aux techniques de sérologie et de diagnostic moléculaire en lien avec les thématiques du CNR. Tous les appels ou courriels sont réceptionnés par le secrétariat du CNR et redirigé vers les médecins seniors titulaires. En moyenne, le CNR reçoit chaque semaine, du lundi au vendredi, 10 appels et autant de courriels en lien avec ses thématiques de recherche.

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

5.2. Conseil et expertise aux autorités sanitaires

En 2025, le CNR participe à la rédaction de recommandations de l'European Society for Clinical Microbiology and infectious Diseases sur la fièvre Q.

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

Le Site Internet du CNR, dont l'adresse est la suivante <https://www.mediterranee-infection.com/diagnostic/les-centres-nationaux-de-reference-cnr/cnr-rickettsioses/> comprend l'ensemble des informations relatives à notre activité.

Sur ce site sont notamment référencés les aspects épidémiologiques, cliniques, diagnostiques et thérapeutiques des maladies infectieuses pour lesquelles nous sommes centre de référence. Ce site permet :

- L'accès à des fiches d'informations synthétiques téléchargeables sur nos différents domaines de compétence. Ces fiches comportent notamment les renseignements utiles pour la réalisation et l'envoi de prélèvements à l'unité à des fins diagnostiques ainsi que le ou les correspondants pour chaque thématique.
- L'accès au catalogue des souches détenues par le CNR.
- Aux rapports d'activités du CNR.

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

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

6.1.1. Fièvre Q

Une collaboration entre le CNR et le centre national bulgare des maladies infectieuses a été l'occasion d'évaluer la prévalence de la fièvre Q chez les étudiants en médecine vétérinaire de deux universités bulgares, situées à Sofia et Stara Zagora (1). Les étudiants vétérinaires de Stara Zagora ont montré une séropositivité significativement élevée pour la fièvre Q (33,6 %), par rapport aux étudiants de Sofia (23 % ; $p < 0,05$). 14,6 % des étudiants étudiés avaient une preuve d'exposition récente. Les résultats de cette étude ont indiqué que l'infection à *C. burnetii* était largement répandue parmi les étudiants vétérinaires en Bulgarie.

Nous avons décrit une situation de risque de transmission inter-humaine de la fièvre Q chez une infirmière en chirurgie qui s'est blessée au doigt avec une lame de scalpel lors d'une chirurgie cardiaque chez une patiente souffrant d'endocardite à *C. burnetii* (2). Compte tenu de la positivité de la culture et de la PCR de *C. burnetii* obtenues à partir de la valve aortique de la patiente, un traitement prophylactique par doxycycline a permis d'éviter le développement de la fièvre Q chez l'infirmière. *C. burnetii* devrait être ajoutée à la liste des organismes susceptibles d'être contractés après une exposition sanguine chez les professionnels de santé.

Une collaboration du CNR avec l'Ecole Supérieure en Sciences de l'Aliment et des Industries Agroalimentaire d'Alger, a permis de rechercher le réservoir et les sources de contamination de *Coxiella burnetii* dans le nord de l'Algérie (3). L'étude de 599 échantillons (sang, placenta, foie, rate et utérus) prélevés chez des bovins, des ovins, des chiens et des chats. A montré que les bovins (4%), ovins (8.6%), chiens (10%) et chats (5%) étaient ou avaient été infectés, le génotype MST 33 étant présent chez les bovins et les ovins alors que le MST 20 était présent chez les bovins seulement et le MST 21 chez les chiens et les chats.

Le CNR s'est associé à un groupe international de médecins spécialistes de la fièvre Q pour réaliser une revue de la littérature afin d'évaluer l'efficacité de la combinaison doxycycline-hydroxychloroquine comme traitement des formes focalisées de la maladie, ainsi que des alternatives potentielles, et proposer la réalisation d'études internationales clinique pour renforcer le niveau de preuve des recommandations actuelles (4).

6.1.2. Rickettsia

2024 aura été l'occasion de remettre à jour le chapitre *Rickettsia* du livre international Goldman-Cecil Medicine (5).

6.1.3. Bartonella

Une collaboration avec l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers, au travers du Dr Carl Boodman a permis d'étudier la littérature sur la prévalence des infections à *Bartonella quintana* en Afrique et de proposer que *B. quintana* répond aux critères de la classification comme maladie tropicale négligée par l'Organisation mondiale de la Santé (6).

Le CNR dispose d'un élevage de poux du corps humains qui permet de développer des modèles expérimentaux d'infection et d'étudier les rapports entre l'arthropode et les pathogènes qu'il transmet, notamment *B. quintana*. Pour faciliter les conditions d'élevage, nécessitant actuellement l'utilisation de lapins, nous avons souhaité développer une technique d'élevage de poux de corps sur membrane artificielle. Nous avons montré qu'il était possible de nourrir les poux à travers une membrane Parafilm sur une boîte de Petri remplie de sang humain hépariné, et avons

observé des taux d'alimentation et de longévité comparables à ceux observés sur des lapins vivants, avec cependant une fécondité moindre (7).

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

6.2.1. Publications en lien avec les missions et activités du CNR

1. Genova-Kalou P, Hodzhev Y, Tsachev I, Pepovich R, Panaiotov S, Dobrinov V, Krumova S, Boneva-Marutsova B, Chakarova B, Todorova K, Simeonov K, Baymakova M, **Fournier PE**. First Insight into the Prevalence of *Coxiella burnetii* Infection among Veterinary Medicine Students in Bulgaria. *Infect Dis Rep*. 2024;16:794-805. doi: 10.3390/idr16050061.
2. Diwunga P, **Million M**, Ravaux I, **Fournier PE**, Gautret P. Occupational exposure to *Coxiella burnetii* during cardiac surgery: A case report and review of the literature. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2024;71:76-81. doi: 10.1556/030.2024.02240.
3. Ghaoui H, Bitam I, Zaidi S, Achour N, Zenia S, Idres T, **Fournier PE**. Molecular detection and MST genotyping of *Coxiella burnetii* in ruminants and stray dogs and cats in Northern Algeria. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2024;106:102126. doi: 10.1016/j.cimid.2024.102126.
4. Delahaye A, Eldin C, Bleibtreu A, Djossou F, Marrie TJ, Ghanem-Zoubi N, Roeden S, Epelboin L. Treatment of persistent focalized Q fever: time has come for an international randomized controlled trial. *J Antimicrob Chemother*. 2024;79:1725-1747. doi: 10.1093/jac/dkac145.
5. **Fournier P.E.**, Raoult D. Rickettsial infections. 2024. In *Goldman-Cecil Medicine*. (eds. L. Goldman, and K.A. Cooney). Pp. 2054-2063. Elsevier, Philadelphia
6. Boodman C, Fongwen N, Pecoraro AJ, Mihret A, Abayneh H, **Fournier PE**, Gupta N, van Griensven J. Hidden burden of *Bartonella quintana* on the African continent: should the bacterial infection be considered a neglected tropical. disease? *Open Forum Infect Dis*. 2023;11:ofad672. doi:10.1093/ofid/ofad672.
7. Hammoud A, Louni M, Abou-Chacra L, Haddad G, **Mazzotti N**, **Fenollar F**, Mediannikov O. Development of a technique using artificial membrane for in vitro rearing of body lice *Pediculus humanus humanus*. *Insects*. 2024;15:145. doi: 10.3390/insects15030145.

6.2.2. Communications dans les congrès internationaux

Swiss Society for Microbiology, Fournier PE. *Coxiella burnetii*: biology, diagnosis and treatment. May 22, 2024. Online webinar. Invited oral presentation.

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

Le CNR des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* a signé avec le laboratoire d'études et de recherches sur la pathologie des petits ruminants et des abeilles, dépendant de l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, une convention de collaboration scientifique. Ce laboratoire, situé à Sophia-Antipolis, est laboratoire national de référence (LNR) pour la fièvre Q en santé animale depuis décembre 2009. A ce titre et dans le cadre d'un groupe de travail avec la direction générale de l'alimentation (DGAL), il participe à la mise en place un réseau pilote des laboratoires départementaux d'analyse chargés du diagnostic de cette pathologie. Il fournit un appui scientifique et technique aux services vétérinaires de l'Etat : analyse de prélèvements en seconde intention, contrôle de vaccins, fourniture de réactifs de référence, suivi de la qualité des analyses des laboratoires de terrain (au travers d'essais inter-laboratoires notamment), expertise d'outils de diagnostic du commerce et mène des recherches portant sur l'harmonisation des outils pour le diagnostic et l'épidémiologie. Il s'est investi dans plusieurs études sur la vaccination en tant qu'outil de la gestion en élevage.

Le CNR et le LNR ont débuté en 2016 une collaboration scientifique de longue durée sur l'étude génomique comparée des souches humaines et animales de *Coxiella burnetii*. L'analyse pangénomique de *Coxiella burnetii* débutée en 2017 et ayant fait l'objet d'un article publié en 2022 (Abou Abdallah R, *et al.* Pangenomic analysis of *Coxiella burnetii* unveils new traits in genome architecture. *Front Microbiol.* 2022;13:1022356), se poursuit. Le CNR participe notamment aux activités de séquençage et d'analyse génomique des souches environnementales de *Coxiella burnetii* dans le cadre du projet européen ICRAD Q-Net-Asses dans lequel est engagé le LNR.

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

8. Programme d'activité pour les années suivantes

8.1. Démarche qualité

Le CNR s'est doté d'un guide de bonne exécution des analyses (GBEA) pour toutes les activités de culture, sérologie et détection moléculaire du laboratoire. Les activités de sérologie du CNR font l'objet d'une accréditation COFRAC EN ISO 15189 (version 2007) sous la référence 8-3446 rév 0 depuis 2014. Ces activités ont fait l'objet de renouvellements d'accréditation en 2018, 2020, 2022 et 2024.

8.2. Activité de recherche en 2025

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

Des tests d'amélioration du milieu de culture axénique de *C. burnetii*, ACCM-2, seront conduits en 2025.

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 2025.

8.3. Activité d'expertise

En 2025 et 2026, le CNR procédera à l'évaluation de la technologie VIRCLIA (Vircell, Espagne), sur les paramètres de sérologie *C. burnetii*, *B. henselae* et *R. conorii*.

Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

1.1. Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

Le Centre National de Référence des Rickettsies, Coxiella et Bartonella (CNR), créé en 1985, a vu son agrément renouvelé par le ministère de la Santé pour la période du 1er janvier 2023 au 31 décembre 2027 (JORF n°0303 du 31-12-2022, texte n°174). Le CNR reçoit plus de 19000 prélèvements (sérum, sang, biopsies diverses et arthropodes) par an de plus de 300 laboratoires publics et privés de France et de nombreux pays étrangers afin d'effectuer le diagnostic d'infections à bactéries intra-cellulaires de culture difficile. Le CNR diagnostique les infections causées par les différentes espèces de rickettsies, Coxiella burnetii et Bartonella.

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

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

1.2. Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

Enseignants chercheurs, médecins et chercheurs

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

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

Ingénieurs et équipes techniques :

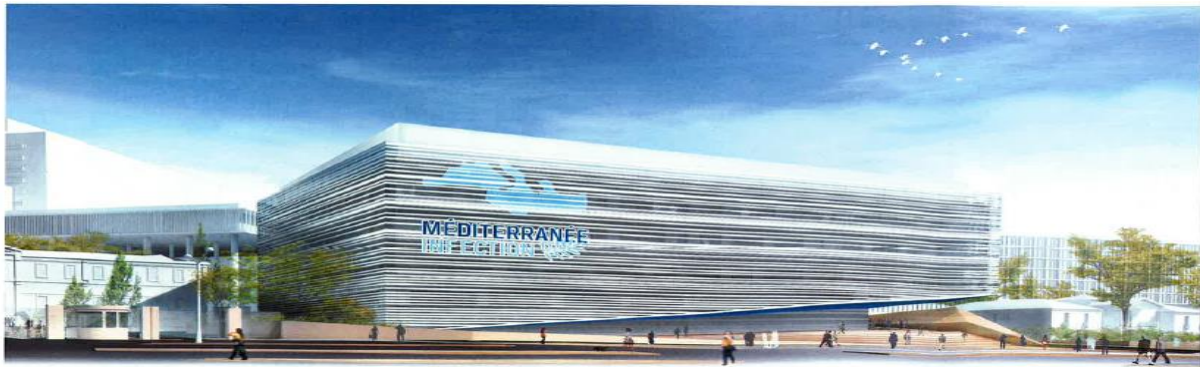
NOM Prénom	Tutelles	Fonction
ANDRIEU Claudia	CHU MARSEILLE - APMH	Ingénieure Rech Plateforme génomique
AMPHOUX Bernard	CHU MARSEILLE - APMH	Technicien Sérologie
ARMSTRONG Nicholas	CHU MARSEILLE - APMH	Ing Etude en Protéomique
BANCOD Audrey	AMU CDD	Technicienne fonctionnement NSB3
BERENGER Jean-Michel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

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

Equipes administratives

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

1.3. Locaux et équipements



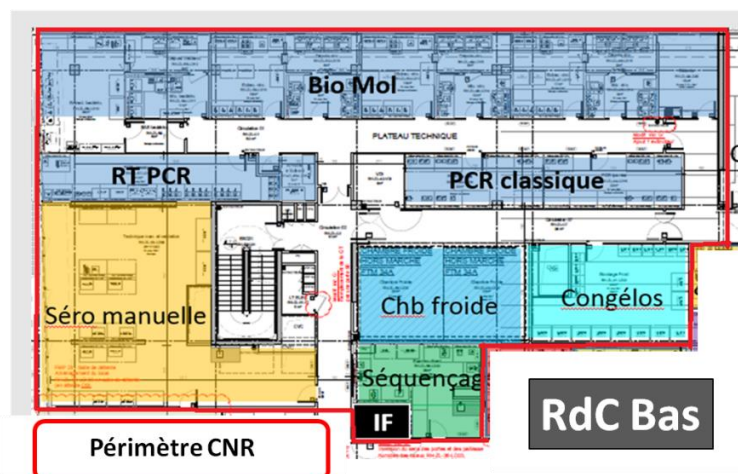
Depuis janvier 2017, le CNR des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* est localisé dans les locaux de l'Institut Hospitalo-Universitaire (IHU) Méditerranée-Infection. Cet institut dédié à la prise en charge et à l'étude des maladies infectieuses comporte :

- Trois unités d'hospitalisation de maladies infectieuses (75 lits, dont 25 lits en niveau de sécurité biologique 3).
- Le laboratoire de diagnostic microbiologique (bactériologie, virologie, parasitologie) du CHU de Marseille.
- Quatre unités mixtes de recherche : UMR **MEPHI D-258** (Microbes Evolution Phylogénie et Infections), UMR **VITROME D-257** (Vecteurs – Infections Tropicales et Méditerranéennes), UMR **UVE D-190** (Unité des Virus Emergents), et UMR **1252-SESSTIM** (Sciences Economiques et Sociales de la Santé et Traitement de l'Information Médicale).
- Des plateformes de culturomique, génomique, microscopie électronique, protéomique, un insectarium, une biobanque et un laboratoire de niveau de sécurité biologique 3 de 1000 m² divisé en 4 modules de 250 m².
- Les CNR des Arbovirus (Pr Xavier de Lamballerie), CNR Paludisme (Dr Bruno Pradines) et le CNR des Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella* (Pr Pierre-Edouard Fournier).
- Le Centre de Référence pour la prise en charge des Maladies Vectorielles à Tiques de la Région Sud (CRMVT Sud), créé en 2020 (Pr Philippe Parola, Dr Jacques Sevestre).
- Le CRAtb : Centre Régional d'Antibiothérapie créé en 2021 (Pr Florence Fenollar, Pr Philippe Brouqui).

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

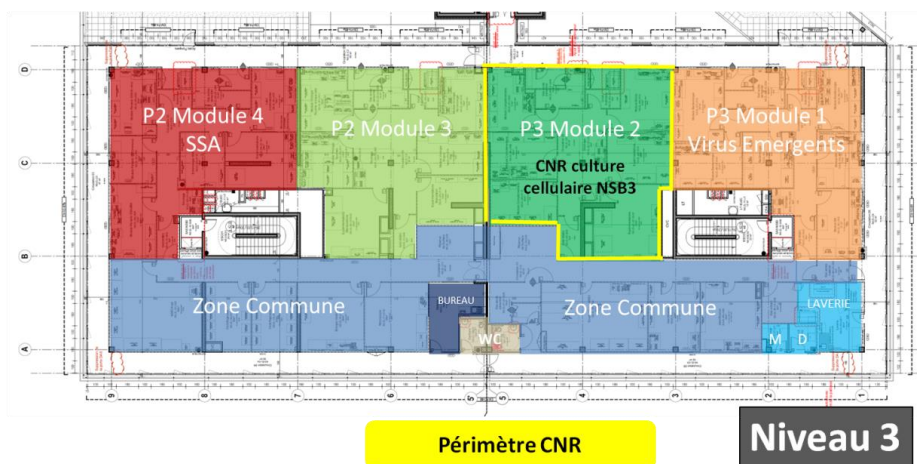
1.3.1. Les activités de sérologie et détection moléculaire du CNR (responsables PE. Fournier et F. Fenollar)

Les activités de sérologie et détection moléculaire du CNR sont réalisées dans le laboratoire de diagnostic microbiologique de l'IHU Méditerranée-Infection (rez-de-chaussée haut).



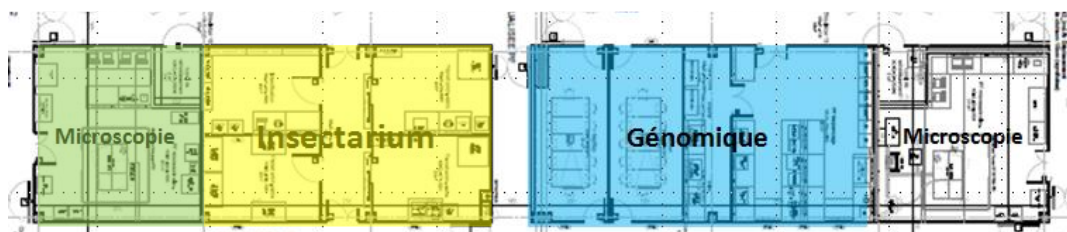
1.3.2. Les activités de culture du CNR (responsable B. La Scola)

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



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

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



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

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

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

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

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

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

Les élevages de tiques, poux et puces infectés par des rickettsies s'effectuent en conditions de sécurité microbiologique de niveau 3 (NSB3).

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

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

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

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

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

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

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

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

3- Services, communication et valorisation : les bioinformaticiens contribuent également à l'accompagnement et à la formation des masters, doctorants et postdoctorants. Ils réalisent la veille technologique, la présentation de résultats aux équipes du CNR dans une réunion hebdomadaire de génomique et la valorisation de ces résultats par la

participation aux publications (voir publications).

1.3.4. Les principaux équipements

1. Sérologie

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

2. Biologie moléculaire – séquençage génomique

- 4 séquenceurs à haut débit MiSeq (Illumina)
- 1 séquenceur à haut débit Novaseq (Illumina)
- 2 séquenceurs à haut débit GridION (Oxford Nanopore)
- 1 séquenceur à haut débit PromethION (Oxford Nanopore)
- 2 préparateurs de banque de séquençage Dreamprep (Tecan)
- 2 séquenceurs 3500XL (Applied Biosystem)
- 10 Thermocyclers conventionnels (Applied biosystems, Eppendorf, Biometra)
- 10 thermocycleurs en temps réel LC480 (Roche)
- 10 extracteurs d'ADN EZ-One (QIAGEN)
- 5 broyeurs Fastprep
- 1 bain sec
- 1 Hydroshear (GeneMachines)
- 7 hottes BIOCAP DNA (Bioblock)
- 1 Chambre UV + Camera CCD Quantum (Appligene)
- 6 cuves de migration / gels PCR (Eurogentec)
- 5 thermocycleurs (Applied Biosystem)
- 1 table UV + Imager (Appligene)
- 1 appareil pour électrophorèse à champ pulsé (Biorad)
- Cuve « vacuum blotter » (Biorad)
- 1 four à hybridation (Appligene)
- 1 hotte chimique (Kötterman)
- 1 Bioanalyser (Agilent)
- 1 extracteur Fast Prep (Savant)
- 1 speed vac (Savant)
- 1 centrifugeuse Beckman à plaque (Allegra X- 15R)
- 1 coulter Beckman Z2
- Lyophilisateur Cosmos 2 (Cryotec)

3. Biologie cellulaire

- 1 thermoshake (Ed Bühler)
- 1 ultra-centrifugeuse de paillasse (Beckman)
- 1 hotte à flux laminaire
- spectrofluorimètre pour plaques (Bio-Teck)

- 1 thermoshake (Gerhardt)
- 2 spectrophotomètres (Beckman, Shimadzu)
- Broyeur de cellules (Bioblock)
- Bombe à cavitation
- UV crosslinker (Bioblock)
- Incubateurs à CO₂
- Étuves sèches
- Four Pasteur
- 4 hottes à flux laminaire
- 1 sorbonne (Kotterman)
- 1 compteur à scintillation (Packard)
- Récupérateur de cellules (Wesbart)
- Détecteur de radioéléments

4. Microscopie

- 4 Microscope pour l'étude morphologique et fonctionnelle des cellules
- Microscopes inversés
- 3 microscopes optiques (dont 2 avec appareil photo)
- 3 microscopes à fluorescence
- Loupe binoculaire avec camera
- Microscope confocal (Leica)
- Microscope biphotonique (Leica)
- Microscope électronique à balayage TM4000+ (Hitachi)
- Microscope électronique à balayage SUV5000 (Hitachi)

5. Culture en laboratoire NSB3 du CNR

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

- 1 poste informatique
- 1 réfrigérateur – congélateur à -20°C
- 3 microscopes optiques (dont 2 avec appareil photo)
- 3 microscopes à fluorescence
- Loupe binoculaire avec camera
- Microscope confocal (Leica)
- Microscope biphotonique (Leica)

6. Equipement informatique propre au laboratoire

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

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

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

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

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

1.4. Collections de matériel biologique

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

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

Cette collection conserve actuellement 666 souches de *Bartonella*, 237 souches de *Rickettsia* et 416 souches de *Coxiella burnetii*, constituant les plus grandes collections mondiales de souches de bactéries de ces trois genres bactériens. Témoins de son implication dans la conservation et l'étude des bactéries de culture difficile, la majorité des nouvelles espèces de *Rickettsia* décrites officiellement depuis 2001, dont des pathogènes humains (*R. heilongjiangensis*, *R. raoultii*) ont été décrites par le CNR. La pérennisation de cette collection est donc particulièrement cruciale.

1.4.1. Conservation sécurisée des souches bactériennes

A. Situation actuelle

La conservation des souches bactériennes est actuellement essentiellement réalisée en congélateurs à -80°C et azote liquide. La gestion des stocks est réalisée manuellement, avec étiquetage des tubes et saisie de l'état des stocks en fichier Excel.

B. Objectifs

L'Institut Hospitalo-Universitaire Méditerranée-Infection s'est doté en 2018 d'une biobanque automatisée permettant de stocker 1 million d'échantillons et souches à -80°C et 2 millions à -20°C. La biobanque automatisée a été mise en fonction en 2020. Les souches sont également conservées en azote gazeux à -196°C et sous forme lyophilisée à -20°C. Chaque appareil de congélation est équipé d'un système d'alarme visuelle et sonore qui envoie en cas de problème un message d'alarme aux agents de sécurité de l'IHU. De plus, les tubes dans lesquels sont conservées les souches seront anonymisés et identifiés par des codes-barres uniques reconnus par un lecteur automatisé. L'avantage d'un tel système est, outre l'anonymisation des tubes qui renforce la sécurité, de permettre une traçabilité accrue de chaque tube et d'assurer une gestion optimisée des stocks. Une pièce de 200 m² sécurisée par cartes d'accès est dédiée à la biobanque robotisée au sous-sol de l'IHU.

1.4.2. Souchier de microorganismes fastidieux

L'Unité des Rickettsies, par sa spécificité de Centre National de Référence pour l'étude des rickettsies, a acquis une expérience unique dans la culture des bactéries de culture difficile, qu'elles soient intra- ou extra-cellulaires. La collection de souches de l'Unité des Rickettsies (CSUR) est riche de plus de mille souches de bactéries intracellulaires. Deux techniciens, MM. Amael Fadlane et Stéphane Alibar, sont responsables de l'entretien du souchier, sous la responsabilité du Pr Fournier. La CSUR a accès au laboratoire de niveau de sécurité biologique 3 de l'IHU. Le Pr La Scola est habilité à la détention des souches bactériennes faisant l'objet d'une surveillance particulière (MOT) : *R. prowazekii* et *R. rickettsii* sous les références ADE-083212017-7 et ADE-083222017-8, respectivement).

A. Protocoles de conservation

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

B. La collection CSUR

La description de nouvelles espèces de *Rickettsia* obéit aux nouvelles règles développées par le Comité International de Systématique des Procaryotes pour l'ensemble des bactéries, dont la mise à disposition des souches-type pour les scientifiques qui souhaitent les étudier. Les souches du CNR sont déposées dans la Collection de Souches de l'Unité des Rickettsies (CSUR, WDCM 875) dont le curateur est le Pr Fournier (<https://www.mediterranee-infection.com/diagnostic/collection-de-souches/>).

La CSUR est l'une des rares collections dans le monde avec l'American Type Culture Collection et la DSMZ qui accepte les bactéries intracellulaires strictes. Actuellement, **236 souches de *Rickettsia*, 398 souches de *Coxiella burnetii* et 665 souches de *Bartonella*** sont déposées dans la CSUR (Tableau 2), faisant de cette collection, **la plus grande collection mondiale de bactéries intracellulaires strictes ou facultatives**. Conformément à la législation sur la circulation des souches bactériennes, la CSUR ne distribue pas les souches de *Coxiella burnetii*, *Rickettsia*

prowazekii, et *Rickettsia rickettsii*. Les souches peuvent être déposées ou demandées à la CSUR à l'aide du formulaire ci-dessous.

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

Genres	Espèces	Nombre de souches
<u><i>Bartonella</i></u>	<i>alsatica</i>	1
	<i>australis</i>	10
	<i>bacilliformis</i>	1
	<i>birtlesii</i>	5
	<i>bovis</i>	34
	<i>capreoli</i>	1
	<i>chomelii</i>	1
	<i>clarridgeiae</i>	27
	<i>coopersplainensis</i>	1
	<i>doshiae</i>	1
	<i>elizabethae</i>	1
	<i>florenciae</i>	2
	<i>grahamii</i>	1
	<i>henselae</i>	92
	<i>koehlerae</i>	2
	<i>massiliensis</i>	2
	<i>phoceensis</i>	1
	<i>queenslandensis</i>	5
	<i>quintana</i>	434
	<i>raoultii</i>	1
	<i>rattaustraliani</i>	5
	<i>rattimassiliensis</i>	9
	<i>senegalensis</i>	3
	<i>schoenbuchensis</i>	17
	<i>taylorii</i>	1
	<i>tribocorum</i>	23
	<i>vinsonii</i>	3
	<i>weissi</i>	4
<u><i>Coxiella</i></u>	<i>burnetii</i>	416
<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>	9
	<i>montanensis</i>	1
	<i>parkeri</i>	2
	<i>raoultii</i>	8
	<i>rhypicephali</i>	1
	<i>sibirica</i>	16
	<i>slovaca</i>	36
	<i>sp.</i>	2
	<i>tamurae</i>	1
	<i>typhi</i>	1
<u><i>Orientia</i></u>	<i>tsutsugamushi</i>	4

CSUR

Collection de Souches de l'Unité des Rickettsies
WDCM 875
Professeur Pierre-Edouard FOURNIER
Directeur
IHU Méditerranée-Infection

STRAIN ORDER FORM

CSUR Account Number: *

Organization: *

First Name: *

Last Name: *

Phone: * (example: 33 (0)491 385517)

Fax:

E-mail: *

Street: *

City: *

Post Code: * (required)

Country: ▼

	CSUR ref	Product Description	Unit Price in EUR	Quantity	Price in EUR
ex	R1	Rickettsia tamurae strain AT-1	750.00	1	750.00
1				1	
2				1	
Total:					

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

CSUR

Collection de Souches de l'Unité des Rickettsies
WDCM 875

Professeur Pierre-Edouard FOURNIER
Directeur

IHU Méditerranée-Infection

+

STRAIN DEPOSIT FORM

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

Agent: _____
Strain: _____
Taxonomic
classification : _____

1. Background information

a. This strain was isolated by: _____
b. From (host): _____
Organ: _____

Tissue: _____
Fluid: _____

Was this strain obtained from human subjects? ☐ Yes ☐ No

c. Clinical disease or symptoms exhibited by host: _____

d. Reference. *Please enclose a copy of relevant references.*

e. Officially recognized as reference strain by (committee): _____

f. List any special handling
requirements: _____

g. Recommended storage conditions (temp, etc.): _____

h. Recommended method for rapid identification (*i.e.*, antibody and source): _____

i. Host range: _____
Incubation: _____

Circle host of choice for *in vitro* propagation _____ days/temp

j. Effect (type of CPE, etc.): _____

k. Special characteristics (physical properties, stability, cross reactions, hemolysin production, presence or absence
of mycoplasma, sequence information, etc.): _____

l. If you did not isolate this strain, indicate from whom you received it: _____

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

3. Properties of material

a. Propagated in (host cells, animal or tissue): _____

b. Medium used, etc.: _____

c. Titer (list as units/volume, *i.e.*, PFU/ml): _____ Titer date: _____

d. Titer conditions (host system, route of inoculum, days to final reading): _____

e. Final preparation (proportion of suspending medium, cryoprotectants, antibiotics, etc): _____

f. Passage level (full passage history of material deposited): _____

4. Safety information

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

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

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

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

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

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

Gift on behalf of the following donor: _____

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

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

Contributor

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

Signature

Date

Signature

Date

Printed Name and Title

Printed Name and Title

Institution

Institution

Mailing Address

Mailing Address

Telephone

Telephone

Fax

Fax

Email

Email

Please fax (33 (0) 4 13 73 24 02) or email the order form (pierre-edouard.fournier@univ-amu.fr)

1.5. Démarche qualité du laboratoire

Le CNR s'est doté d'un guide de bonne exécution des analyses (GBEA) pour toutes les activités de culture, de sérologie et de détection moléculaire du laboratoire. Au cours de l'année 2014, les activités de sérologie du CNR ont fait l'objet d'une accréditation COFRAC EN ISO 15189 (version 2007) sous la référence 8-3446 rév 0. Ces activités ont fait l'objet de renouvellements d'accréditation en 2018, 2020 et 2022.

Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

2.1. Liste des techniques de référence

2.1.1. La sérologie

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

A. Immunofluorescence indirecte

La sérologie se fait par immunofluorescence indirecte. Tous les antigènes sont cultivés en laboratoire de niveau de sécurité biologique 3. Les activités de sérologie du CNR ont fait l'objet d'une accréditation COFRAC EN ISO 15189 (version 2012) sous la référence 8-3446. Ces activités ont fait l'objet du 09 au 12 octobre 2018 d'une visite des experts COFRAC (rapport d'activités SH-10-0469-1 v00).

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

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

Pour le diagnostic sérologique des bartonelloses, les *Bartonella* sont produites sur cellules endothéliales humaines de type ECV-304. La production des antigènes, leur purification et les différentes techniques sérologiques pour le diagnostic des rickettsioses sont identiques aux méthodes publiées. La valeur seuil utilisée pour le diagnostic de maladie des griffes du chat est $\geq 1:100$ pour les IgG, et $\geq 1:800$ pour les 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
BARTONELLA						
Toutes Bartonella	ITS	Barto ITS3 F	GATGCCGGGGAAGGTTTTC	19		104 pdb
		Barto ITS3 R	GCCTGGGAGGACTTGAACCT	20		
		Barto ITS3 P	6FAM- GCGCGCGCTTGATAAGCGTG	20		
	ITS	Barto ITS2 F2	GGGGCCGTAGCTCAGCTG	18		171 pdb
		Barto ITS2 R2	TGAATATATCTTCTTTCACAATTTC	26		
		Barto ITS2 P	6FAM- CGATCCCGCTCCGGCTCCACCA	21		
Bartonella henselae	PAP	PAP 246F	TATGCCTTATGTGTGCTGGTGGT	22		151 pdb
		PAP 396R	ACCACCGCCAAGAGTGAAC	20		
		PAP246/396_MBP	6FAM- CAAGCAGCAGATGATGCAGAAATCGC	26		
		PAP 246F/396R ancienne sonde	6FAM- CTGTCAGTTCTACTAAGGTAA			
	GROEL	GROEL 493F	GGTGCTGGACAAAAGAGCGA	20		151 pdb
		GROEL 643R	TTGCTCCACCAACACGGATA	20		
		GROEL P 493F/643R	6FAM- AATTGCAAGAAAGACTTGCT	20		
Bartonella quintana	yopP	B qui 11580F	TAAACCTCGGGGAAGCAGA	20		134 pdb
		B qui 11580R	TTTCGTCTCAACCCATCA	20		
		B qui 11580P	6FAM- CGTTGCCGACAAGACGTCTTGC	23		
	fabF3	B qui 05300F	GCTGGCCTTGCTCTTGATGA	20		139 pdb
		B qui 05300R	GCTACTCTGCGTGCCTTGGA	20		
		B qui 05300P	6FAM- TGCAGCAGGTGGAGGAGAACGTG	23		
COXIELLA						
Coxiella burnetii	hypothetical p.	IS30a 3F	CGCTGACCTACAGAAATATGTCC	23		164 pdb
		IS30a 3R	GGGGTAAGTAAATAATACCTTCTGG	25		
		IS30a F3-R3 P	6FAM- CATGAAGCGATTATCAATACGTGTATGC	29		
	IS1111A	IS 1111 0706 F	CAAGAAACGTATCGCTGTGGC	21		154 pdb
		IS 1111 0706 R	CACAGAGCCACCGTATGAATC	21		
		IS1111 07-06 P	6FAM- CCGAGTTCGAAACAATGAGGGCTG	24		
EHRlichia						
Anaplasma phagocytophilum	polA	A_pha0001F	TTTGATTTCGGGGTCGAAAAA	20		121 pdb
		A_pha0001R	AACGCTTCAACAGCCTCACG	20		
		A_pha0001P	6FAM- TCGCCCTAAAGCACAGAGGATCTG	25		
	gatA	A_pha0748F	CGCACTACCGCATGCTCTG	19		129 pdb
		A_pha0748R	AGCCCATGGCAAATTCATCC	20		
		A_pha0748P	6FAM- TGCTTGCAATGAGGAAATTGAACA	26		
	orf 1395	A_pha1395F	CAGAAGAACCAGCAGCGATA	20		138 pdb
		A_pha1395R	TCGACGTAGGTGAGCTGCAA	20		
		A_pha1395P	6FAM- TGACCAAAGATGCACATGTTGCACA	25		
Ehrlichia canis	taredoxin related	E_can0701F	TGAGGCCATTAAAGAATTCACAA	23		113 pdb
		E_can0701R	TGAAGCTCTCCACTGTGGTACATT	25		
		E_can0701P	6FAM- AGGTGAGTTTATTGGTGCGACA	23		
	hyp. p.	E_can0503F	CAGCAAAATCCAAATCTGCATTC	23		146 pdb
		E_can0503R	GAGCTTCCAATTGATGGGTCTG	22		
		E_can0503P	6FAM- TGTTATCTAATGCAAAAATCCCCGGCA	27		
Neorickettsia sennetsu	gltA	gltA sennetsu F	GGCTACAGCTAGTTTATGGGG	21		166 pdb
		gltA sennetsu R	AGTTTTTATACACCCCTGTGCC	22		
		gltA sennetsu	6FAM- GCGCGTTAAAAGAAAAGAGAGAGAC	26		

2.1.3. Culture

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

2.1.4 Identification entomologique

Les arthropodes adressés au CNR (tiques, puces, poux) font l'objet d'une identification morphologique sous loupe binoculaire ainsi que d'une identification d'espèce par spectrométrie de masse MALDI-TOF au sein de l'insectarium de l'IHU Méditerranée Infection. En cas d'identification insuffisante, une amplification suivie de séquençage du gène est réalisée.

En 2024, le CNR a reçu 111 tiques adressées par des patients.

Tableau 2 : Liste des tiques reçues par le CNR en 2024

2024	Espèce	Nombre
	<i>Hyalomma lusitanicum</i>	1
	<i>Hyalomma marginatum</i>	1
	<i>Dermacentor marginatus</i>	14
	<i>Dermacentor reticulatus</i>	1
	<i>Dermacentor variabilis</i>	1
	<i>Ixodes scapularis</i>	1
	<i>Ixodes hexagonus</i>	4
	<i>Ixodes ricinus</i>	72
	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	11
	<i>Rhipicephalus bursa</i>	1
	<i>Rhipicephalus pusillus</i>	2
	<i>Haemaphysalis punctata</i>	1
	Non identifié	1
	Total	111

2.2. Liste des techniques recommandées par le CNR

Fièvre Q :

Sérologie par immunofluorescence

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

Génotypage : multispacer typing ou séquençage génomique

Rickettsia :

Sérologie par immunofluorescence

Détection moléculaire : par ciblage des gènes GLTA et OMPA

Génotypage : multispacer typing ou séquençage génomique

Bartonella :

Sérologie par immunofluorescence

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

Génotypage : multispacer typing ou séquençage génomique.