



**CNR *Brucella***  
Unité Zoonoses Bactériennes  
Agence Française de Sécurité  
Sanitaire des Aliments (AFSSA)  
BP 67  
94703 Maisons-Alfort Cedex  
Tel. 01 49 77 13 23  
Fax. 01 49 77 13 44  
e-mail. [b.garin@afssa.fr](mailto:b.garin@afssa.fr)

**Dr Bruno GARIN-BASTUJI**

## Centre National de Référence des **BRUCELLA**



**Laboratoire Associé:**  
Laboratoire de Bactériologie  
CHU de Grenoble

BP 217  
38043 Grenoble Cedex 09  
Tel. 04 76 76 54 79  
Fax. 04 76 76 59 12  
e-mail. [mmaurin@chu-grenoble.fr](mailto:mmaurin@chu-grenoble.fr)

**Pr Max MAURIN**

### Rapport d'activité annuel du Centre National de Référence des *Brucella*

#### Année 2002

Par arrêté du 8 octobre 2002, le Centre National de Référence (CNR) des *Brucella* est assuré par l'Unité Zoonoses Bactériennes (UZB) de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (Afssa). Le responsable du CNR est le Dr Bruno GARIN-BASTUJI, chef de cette unité à l'Afssa. Le laboratoire de bactériologie du Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble a été nommé plus récemment Laboratoire associé au CNR des *Brucella* (CNR-LA), dont la responsabilité incombe au Pr Max MAURIN. Une convention de collaboration a été rédigée et sera mise en place prochainement entre l'AFSSA et le CHU de Grenoble.

Les missions, domaines d'activités et prérogatives du CNR et de son laboratoire associé ont été définies dans un cahier des charges déposé à l'InVS et annexé au présent rapport (Annexe 1). Une convention de collaboration devrait être établie courant 2003.

**Malgré une demande de la Direction Générale de l'AFSSA en date du 7 novembre 2002, le CNR *Brucella* n'a fait l'objet d'aucune convention entre l'AFSSA et la Direction Générale de la Santé et l'InVS. Aucun budget lui permettant d'assurer ses fonctions de CNR ne lui a été alloué pour 2002 comme pour 2003. Le CNR-LA a, quant à lui, reçu une subvention de 62 676 €uros. Seule la fiche « Utilisation des crédits accordés par le ministère en 2002 » correspondant au CNR-LA est donc jointe à ce rapport d'activité.**

Le CNR dispose d'une autorisation d'acquisition, de détention et de mise en œuvre permanente pour les *Brucella* délivrée par l'AFSSAPS sous le N° F- 0287AFS12002-3 depuis le 26 mars 2002 en application

de l'Arrêté du 22 septembre 2001. Le CNR-LA dispose également d'une autorisation analogue sous le N° F-1003CHU12003-6 depuis le 18 avril 2003.

Ce rapport comprendra successivement le rapport du CNR à l'Afssa puis celui du laboratoire associé au CHU de Grenoble.

## **Rapport du CNR *Brucella***

### **1. Activité d'expertise**

Le CNR apporte son appui aux laboratoires d'analyse et de biologie médicale (LABM) pour l'isolement et l'identification présomptive des *Brucella*. Il est par ailleurs responsable de l'identification complète (typage), *a minima* phénotypique et, si nécessaire, moléculaire, des *Brucella*. Il est, à ce titre, le destinataire des souches suspectées d'être des *Brucella* par les LABM.

Il met également en œuvre, le cas échéant, des outils de détection, notamment moléculaires (PCR), lorsque, en particulier, les tentatives d'isolement par les méthodes bactériologiques classiques n'ont pas donné de résultat malgré une forte suspicion ou lorsque l'urgence du diagnostic est incompatible avec le délai incompressible de l'isolement classique. Il est à ce titre le destinataire des prélèvements destinés à la recherche directe de *Brucella*, de leurs antigènes ou de leurs acides nucléiques.

Il est en charge de la collection nationale des souches de *Brucella* d'origine humaine et animale ou alimentaire (soit près de 2000 souches [dont l'ensemble des souches de référence [souches types, souches vaccinales, souches destinées à la production des antigènes et allergènes de diagnostic]).

Le CNR a en 2002 eu à traiter 24 dossiers dont 23 correspondant à une demande d'identification et de typage de souche suspecte et 1 dossier relatif à une demande de PCR pour un patient atteint d'endocardite mais dont l'hémoculture s'était avérée négative (suspicion d'infection à *B. suis* biovar 2 chez une patiente séropositive et éleveuse de porcs infectés par cette souche – PCR négative).

Parmi les 23 souches reçues, correspondant à 17 patients, 21 se sont avérées être des *Brucella*. Les informations détaillées relatives à ces souches sont données à l'annexe 2.

Une souche humaine d'origine indienne a par ailleurs été identifiée.

La liste des autres souches de *Brucella* identifiées par le laboratoire dans le cadre de ses activités de Laboratoire National et de Laboratoire International de Référence pour les Brucelloses animales (OIE/FAO) est donnée à l'annexe 2.

L'ensemble de ces données a été communiqué, comme chaque année, au sein d'un rapport général de l'AFSSA, au Laboratoire Communautaire de Référence des Zoonoses à Berlin.

### **2. Contribution à la surveillance épidémiologique**

Le CNR est en relation permanente par courrier électronique et par téléphone avec l'InVS et le CNR-LA (CHU Grenoble). Il communique notamment les résultats des analyses bactériologiques effectuées pour les patients suspects de brucellose. Ces données permettent à l'InVS de confirmer les cas qui lui ont été déclarés et de solliciter une déclaration et une fiche de signalement lorsque celles-ci ne lui sont pas parvenues.

### 3. Conseils

Le CNR répond à toute demande de conseil dans ses domaines de compétence ou adresse ses correspondants à son laboratoire associé ou à l'InVS selon la nature de la demande. Plusieurs fiches ont été établies en collaboration avec le Laboratoire associé et l'InVS et servent de base à l'information des LABM qui déclarent les cas de brucellose à l'InVS ou qui demandent une expertise diagnostique concernant cette maladie. Une première fiche descriptive définit la répartition des tâches entre CNR et CNR-LA (Annexe 1). Une deuxième fiche précise les modalités d'envoi des souches au CNR. Une troisième correspond à la fiche d'accompagnement des souches lors d'envoi au CNR. Enfin une lettre accompagne les documents ou les emballages qui sont envoyés au LABM pour lui faciliter la tâche pour la demande d'autorisation de transport à l'Afssaps, le signalement à l'InVS et l'envoi de la souche au CNR (Annexe 3).

Le CNR a par ailleurs été associé aux réflexions de l'InVS :

- pour la priorisation des zoonoses non alimentaires en France
- pour la mise en œuvre d'une enquête cas-témoin sur la brucellose humaine à *B. melitensis* en France
- pour la mise en œuvre d'une enquête sur le risque zoonotique de la Brucellose porcine à *B. suis* biovar 2.

### 4. Recherche et développement

Les activités de recherche de l'unité d'accueil du CNR concernent de longue date le diagnostic/dépistage et le contrôle des brucelloses animales. En fait, ces activités ont comme objectif majeur de répondre aux questions progressivement soulevées par la mise en œuvre du programme national de contrôle puis d'éradication et la situation épidémiologique des brucelloses animales :

- développement et standardisation d'outils de diagnostic/dépistage direct et indirect d'une meilleure praticabilité ou qualité et dont la valeur prédictive était suffisamment bien cernée pour les insérer au mieux dans le dispositif de contrôle, chez les bovins, ovins et caprins, tant dans la phase initiale d'assainissement que dans la phase plus récente d'éradication et de protection contre la ré-infection ;
- évolution de l'outil vaccinal chez les petits ruminants pour mieux répondre à la stratégie médico-sanitaire de lutte dans ces espèces (interférences avec le diagnostic) puis renforcement de la sensibilité du

dispositif de surveillance dans la phase d'éradication et enfin analyse de risques pour la sortie du schéma vaccinal ;

- recherche de réservoirs potentiels de l'infection, dans la faune sauvage notamment, et évaluation du risque pour l'élevage comme pour la santé publique (chamois, cervidés, sangliers, lièvres ; mammifères marins ; chien) ;

- veille sanitaire et enquêtes épidémiologiques (développées en collaboration avec l'unité Epidémiologie d'Alfort) permettant d'identifier toute (ré)émergence de l'infection (brucellose porcine) et développement en parallèle, le cas échéant, des recherches pour le diagnostic et le contrôle de telles infections ;

- développement d'outils d'identification et de typage des *Brucella* permettant de tracer l'origine et les conséquences des foyers tant chez les animaux que chez l'homme.

- dans le domaine des produits biologiques (outils de diagnostic et vaccins), développement et standardisation des méthodes de contrôle de qualité.

Pour ce qui concerne le diagnostic de la brucellose humaine proprement dit, le CNR dispose déjà d'une PCR (par double amplification) d'une sensibilité et d'une spécificité remarquables (fondées sur la séquence IS711/6501, actuellement la plus spécifique du genre *Brucella* et reconnue comme la séquence optimale pour une utilisation en PCR). Cette PCR a été doré et déjà adaptée en méthode Real-time (temps réel) et sa validation devrait être entreprise dès l'acquisition de l'appareil *ad hoc* (prévue pour 2003). Le CNR est par ailleurs en relation étroite avec les équipes INRA et INSERM qui travaillent dans le domaine et certains outils moléculaires (PCR ancree, PFGE et PCR-RFLP) ont pu être acquis et sont (ou seront prochainement) mis en œuvre par le CNR.

## 5. Formation

Quatre cours assurés au cours international "CIHEAM Advanced Seminar – Human and Animal Brucellosis", Pamplona, Espagne, 16-20/09/2002" :

1. Garin-Bastuji B, Pouillot R, Benet JJ, 2003. The diagnostic reliability of brucellosis tests in areas free or with a moderate prevalence.
2. Garin-Bastuji B, 2003. Epidemiology of Brucellosis.
3. Garin-Bastuji B, 2003. Organisation of a Diagnostic/ Research Laboratory in Brucellosis Bio-safety conditions and accreditation rules.
4. Pouillot R, Garin-Bastuji B, 2003. The false positive serological reactions in Brucellosis: cell mediated approaches to the diagnosis.

## 6. Productions scientifiques et techniques (en rapport avec la Brucellose)

### Publications

#### a) **Scientifiques ou techniques**

- *articles dans des périodiques à comité de lecture :*

1. Godfroid J, Saegerman C, Wellemans V, Walravens K, Letesson JJ, Tibor A, Mc Millan A, Spencer S, Sanaa M, Bakker D, Pouillot R, Garin-Bastuji B, 2002. How to substantiate eradication of bovine brucellosis when aspecific serological reactions occur in the course of brucellosis testing, *Vet. Microbiol.*, 90, 461-477

2. Da Costa M, Thiébaud M, Hénault S, Garin-Bastuji B, 2003. Comparison between nested polymerase chain reactions and bacteriology for detecting *Brucella* spp. in animal samples. Soumis à *Letters in Applied Microbiology*
  3. Pouillot R, Grilló MJ, Alabart JL, Garin-Bastuji B, Blasco JM, 2003. Statistical procedures for calculating the residual virulence (Recovery Time 50) of *Brucella abortus* S19 and *Brucella melitensis* Rev 1 vaccines in mice: theoretical basis and practical applications. Soumis à *Rev. Sci. Tech. OIE*.
- *rappports et communications* :
1. Rossi S, Brandt S, Vassant J, Gauthier D, Fromont E, Garin-Bastuji B, Artois M, 2002. Survey of Porcine Brucellosis involving *Brucella suis* Biotype 2 in Wild Boar (*Sus scrofa scrofa*), Arc-en-Barois forest, France. *International Wild Boar Symposium, Lousa, Portugal, 19-22/09/02* (communication).
  2. Hue C, Van Canneyt O, Jauniaux T, Thiébaud M, Verger JM, Grayon M, Garin-Bastuji B, 2003. First evidence of *brucella* infection in a bottlenose dolphin stranded on the French Atlantic coast, *European Cetacean Society Annual Meeting, 9-12 March 2003, Las Palmas (Espagne)*.

#### **b) Professionnelles ou de vulgarisation**

- *articles* :
1. Leclerc V, Dufour B, Lombard B, Gauchard F, Garin-Bastuji B, Salvat G, Brisabois A, Poumeyrol M, De Buyser ML, Gnanou-Besse N, Lahellec C, 2002. Pathogens in meat and milk products: surveillance and impact on human health in France. *Livestock Production Science*, 76, 195-202.
  2. Garin-Bastuji B, 2003. Brucellose ovine et caprine, Numéro Spécial Pathologie Ovine et Caprine, Point Vét, sous presse.
  3. Garin-Bastuji B, 2003. La brucellose des petits ruminants en France, Point Vét, n°235, sous presse.
- *ouvrages ou chapitres d'ouvrage* :
1. Garin-Bastuji B, 2002. *Brucella* spp., *In: Encyclopaedia of Dairy Sciences*, H. Roginski, J.W. Fuquay, P.F. Fox Eds, Academic Press, London, UK, 178-186.
  2. Godfroid J, Garin-Bastuji B, Blasco JM, Thoen CO, Angus RD, 2003. *Brucella melitensis* Infection. *In: Infectious diseases of livestock - Coetzer, J.A.W., Thomson, G.R. and Tustin, R.C., Editors. Oxford (Southern Africa), 2003* (sous presse).
  3. Blasco JM, Garin-Bastuji B, Thoen CO, Gilsdorf MJ, Godfroid J, 2003. *Brucella Ovis* Infection. *In: Infectious diseases of livestock - Coetzer, J.A.W., Thomson, G.R. and Tustin, R.C., Editors. Oxford (Southern Africa), 2003* (sous presse).
- *rappports et communications* :
1. Hars J, Boué F, Boireau P, Garin-Bastuji B, Le Potier MF, Mesplède A, Pacholek X, Toma B, 2002. The French serological survey in wild boar populations - 2000-2001 Report. *5<sup>th</sup> Meeting of the European Section of Wildlife Diseases Association, Heidelberg, Allemagne, 8-12 mai 2002* (communication).
  2. Hars J, Boué F, Boireau P, Garin-Bastuji B, Le Potier MF, Mesplède A, Pacholek X, Toma B, 2002. Epidemiosurveillance of classical swine fever, Aujeszky's disease, brucellosis and trichinellosis in Wild Boar populations in France: results of the last serological surveys. *International Wild Boar Symposium, Lousa, Portugal, 19-22/09/02* (communication).

#### Rapports et documents d'appui scientifique et technique

1. Boué F, Hars J, Le Potier MF, Mesplède A, Garin-Bastuji B, Boireau P, Toma B, Pacholek X, 2002. Bilan du Programme National 2001/2002 de Surveillance Sérologique des Sangliers Sauvages - Peste Porcine Classique, Maladie d'Aujeszky, Brucellose, Trichinellose. 40 pp., 10/02.
2. Boué F, Hars J, Le Potier MF, Mesplède A, Garin-Bastuji B, Boireau P, Toma B, Pacholek X, 2002. Bilan de la première année du Programme National de validation des tests sérologiques sur des extraits musculaires et pulmonaires chez le sanglier Sauvage (2000/2001) - Peste Porcine Classique, Maladie d'Aujeszky, Brucellose, Trichinellose. 14 pp., 10/02.

#### Rapports et documents d'expertise

1. Collective (2002) European Task Force for Monitoring Disease Eradication in the Member States, Report of the « Sheep and Goats brucellosis sub-group » 7<sup>th</sup> meeting, Mirandela, Portugal, 26-27/11/01. 11 pp.
2. Collective, 2002. European Task Force for Monitoring Disease Eradication in the Member States, Report of the « Bovine Brucellosis » and « Sheep and Goats brucellosis » sub-groups meeting, Brussels, Belgium, 12-13/02/02. 15 pp.
3. Collectif, 2002 Méthodes d'analyse en santé animale - Guide pour l'organisation des essais inter-laboratoires d'aptitude en immuno-sérologie animale. Norme AFNOR U47-400.
4. Collectif 2002 Méthodes d'analyse en santé animale – Terminologie. Norme AFNOR U47-300.
5. Garin-Bastuji B, 2002, Méthodes d'analyse en santé animale - Recherche d'anticorps contre la brucellose par la technique de séroagglutination lente. Norme AFNOR U47-021.
6. Collective, 2002. Final Report of a Mission carried out in Ireland From 10 to 14 June 2002 in order to evaluate the progress of the Bovine Brucellosis Eradication Programme. European Commission, DG Sanco, FVO, ref. no. DG(SANCO)/8550/2002 – MR Final.
7. Collective, 2002. European Task Force for Monitoring Disease Eradication in the Member States, Report of the « Bovine brucellosis sub-group » 7<sup>th</sup> meeting, Belfast, UK, 15-16/05/02. 18 pp.
8. Collective, 2002. European Task Force for Monitoring Disease Eradication in the Member States, Report of the « Sheep and Goats brucellosis sub-group » 9<sup>th</sup> meeting, Ioannina, Greece, 03-04/07/02. 14 pp.
9. Collectif, 2002. Définition des Priorités dans le domaine des Zoonoses non alimentaires 2000-2001. ISBN :2-11-092647-X - Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France.
10. Collective, 2002. European working group on sheep and goats brucellosis (Task force for monitoring eradication programmes). Review of Council Directive 91/68/EC - First meeting, Brussels, 26 & 27/09/2002 - Proposal for a ring-trial in sheep and goats brucellosis serology, 3 pp., 12/02.
11. Collective, 2003. European Task Force for Monitoring Disease Eradication in the Member States, Report of the « Bovine brucellosis sub-group » 8<sup>th</sup> meeting, Cork, Ireland, 16-17/12/2002. 18 pp.
12. Garin-Bastuji B, 2002. Méthodes d'analyse en santé animale - Recherche et identification de *Brucella* spp., autres que *B. canis* et *B. ovis*. Projet de norme AFNOR soumis à enquête probatoire.
13. Garin-Bastuji B, 2003. Méthodes d'analyse en santé animale - Protocole de contrôle des réactifs pour la recherche des anticorps dirigés contre la brucellose bovine par la méthode ELISA dans des mélanges de laits. Projet de norme AFNOR soumis à enquête probatoire.
14. Garin-Bastuji B, 2003. Méthodes d'analyse en santé animale - Protocole de contrôle des réactifs pour la recherche des anticorps dirigés contre la brucellose par la technique de l'Épreuve à l'Antigène Tamponné, de Fixation du complément ou de Séroagglutination lente dans des sérums individuels ou pour la recherche des anticorps dirigés contre la brucellose bovine par la technique de l'Épreuve de l'Anneau en mélange de laits. Projet de norme AFNOR soumis à enquête probatoire.
15. Garin-Bastuji B, 2003. Méthodes d'analyse en santé animale - Protocole de contrôle des réactifs pour la recherche des anticorps dirigés contre la brucellose bovine par la méthode ELISA dans des sérums (individuels ou mélange de 10 sérums). Projet de norme AFNOR soumis à enquête probatoire

**Le rapport synthétique d'activité du CNR est joint en annexe 4**

## Rapport d'activité annuel du Laboratoire Associé

### au Centre National de Référence des Brucella

#### Année 2002

Par arrêté du 8 octobre 2002, le Centre National de Référence (CNR) des *Brucella* est assuré par l'Unité Zoonoses Bactériennes (UZB) de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (Afssa). Le responsable du CNR est le Dr Bruno GARIN-BASTUJI, chef de cette unité à l'Afssa. Le laboratoire de bactériologie du Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble a été nommé récemment Laboratoire Associé au CNR des Brucella (CNR-LA), dont la responsabilité incombe au Pr Max MAURIN. Une convention de collaboration a été rédigée et sera mise en place prochainement entre l'AFSSA et le CHU de Grenoble. Cette convention précise notamment les missions du laboratoire associé au CNR :

- expertise diagnostique auprès des cliniciens ;
- diagnostic de laboratoire immunologique (diagnostic indirect) des brucelloses : le CNR-LA apporte son appui aux LABM pour la mise en œuvre et l'interprétation des résultats des épreuves sérologiques courantes de détection des anticorps anti-*Brucella* chez l'Homme. Il est le destinataire des prélèvements de sang ou des échantillons de sérum destinés au diagnostic immunologique. Il est en charge de la collection nationale de sérums issus de cas suspects ou avérés de brucellose humaine. Il met en œuvre par ailleurs, le cas échéant, des outils de détection immunologique destinés à affiner le diagnostic de brucellose (par rapport notamment aux réactions sérologiques non spécifiques liées à des infections par des agents croisant au plan antigénique) et à déterminer le cas échéant le caractère aigu ou chronique de l'affection.
- une mission commune avec le CNR est de contribuer à la surveillance épidémiologique de la brucellose, en liaison avec l'Institut de Veille Sanitaire (InVS).
- une mission commune avec le CNR, de développement d'une recherche appliquée concernant les méthodes diagnostiques et le traitement de la brucellose.

Le CNR-LA est en relation permanente par courrier électronique et par téléphone avec le CNR (Afssa) et l'InVS. Il communique notamment les résultats anonymisés des analyses sérologiques effectuées sur le sérum des patients suspects de brucellose déclarés à l'InVS.

Plusieurs fiches ont été établies et servent de base à l'information des LABM qui déclarent les cas de brucellose à l'InVS ou qui demandent une expertise diagnostique concernant cette maladie. Une première fiche descriptive définit la répartition des tâches entre CNR et CNR-LA (Annexe 1). Une deuxième fiche précise les modalités d'envoi des souches et prélèvements de bactériologie pour PCR au CNR. Une

troisième fiche précise les conditions de prélèvement et modalités d'envoi des échantillons de sérum ou de sang au CNR-LA pour le diagnostic sérologique de la brucellose (Annexe 5).

### **1/ mission d'expertise**

Le CNR-LA a développé au CHU de Grenoble les techniques sérologiques qui font actuellement référence dans le diagnostic indirect de la brucellose humaine : le test d'agglutination en tube de Wright (avec recherche d'anticorps bloquants), le test d'agglutination sur lame au Rose Bengale, et un test d'immunofluorescence indirecte permettant de détecter les anticorps spécifiques anti-*Brucella* de type IgM et IgG.

Ces techniques diagnostiques ont été appliquées à ce jour, sur une période de 4 mois, sur 27 sérums correspondant à 16 patients suspect de brucellose. Les laboratoires expéditeurs étaient répartis dans les départements suivants : certains départements d'Île de France (Paris, Seine Saint Denis, Val de Marne), le Finistère, la Saône et Loire, la Seine Maritime, la Dordogne, la Haute Savoie, les Hautes Alpes, les Alpes maritimes, et la Corse du Sud. Le diagnostic a été confirmé par isolement d'une souche de *Brucella* sur hémoculture et identification de la souche par le CNR chez 6 patients. Parmi les 10 patients restants, le diagnostic de brucellose a pu être écarté chez 7 patients du fait d'une sérologie négative ou de titres en anticorps spécifiques très faibles (Wright  $\leq$  80, IgM et IgG  $\leq$  40). Deux autres patients présentaient des titres en anticorps intermédiaires (Wright = 320 mais IgM = 160, IgG = 20, et Wright = 160, IgM = 160 et IgG = 80) ne permettant pas de conclure. Enfin, une patiente hospitalisée pour avortement après un séjour en Gambie, présentait une sérologie évoquant une brucellose chronique (Wright = 80, IgM < 20, IgG = 1280). Du fait de la rareté de la brucellose en France, il est nécessaire de redéfinir des seuils sérologiques permettant une bonne spécificité et une bonne valeur prédictive positive des tests sérologiques. Il est intéressant de noter que tous les patients pour lesquels le diagnostic de brucellose était confirmé par l'isolement d'une souche de *Brucella*, présentaient un titre  $\geq$  320 par test de Wright associé à un titre IgG en immunofluorescence  $\geq$  640 dans 80% des cas. Une plus grande expérience dans ce domaine d'expertise sérologique nous permettra vraisemblablement d'affiner les seuils significatifs de ces tests sérologiques.

Les résultats des tests sérologiques sont transmis pour chaque patient par téléphone puis par courrier aux laboratoires expéditeurs, avec une aide à l'interprétation en fonction des éléments cliniques et épidémiologiques recueillis. Ils sont également transmis à l'Institut de veille sanitaire et au CNR des *Brucella*.

### **2/ mission de contribution à la surveillance épidémiologique**

Le CNR-LA contribue de façon indirecte à la surveillance épidémiologique de la brucellose en France, par une expertise sérologique permettant de confirmer un non le diagnostic de brucellose lorsque celui-ci n'a pas pu être établi de façon formelle par isolement de la souche bactérienne en cause. Les données

cliniques, épidémiologiques et des tests diagnostiques sont échangées régulièrement entre le CNR (Afssa), l'InVS et le CNR-LA, de façon à harmoniser ces informations.

### **3/ mission de détention et maintien de souches types**

Le CNR-LA a obtenu auprès de l'Afssaps une autorisation « d'acquisition, de détention et de mise en œuvre permanente » de souches de *Brucella*. Il est prévu l'envoi de souches humaines de *Brucella* du CNR (Afssa) vers le CNR-LA, de façon à constituer une collection de souches au CHU de Grenoble. Ces souches seront utilisées pour : 1/ produire des antigènes permettant la mise en place de nouveaux tests sérologiques ; 2/ isoler de l'ADN de *Brucella* permettant le développement de techniques diagnostiques basées sur la PCR en temps réel ; 3/ développer des tests permettant d'évaluer la sensibilité de ces bactéries aux antibiotiques par méthodes phénotypiques ou génotypiques. Ces souches seront utilisées dans le cadre d'une activité de recherche appliquée, faisant l'objet d'une convention de collaboration spécifique avec l'Afssa. Enfin, l'envoi de ces souches permettra également de dupliquer en partie la collection de souches de *Brucella* gérée par le CNR.

### **4/ mission de recherche appliquée : perspectives**

Notre mission d'expertise sérologique concernant le diagnostic de brucellose humaine a pour but essentiel de confirmer ou non ce diagnostic lorsqu'il n'a pas pu être établi de façon définitive par isolement d'une souche de *Brucella*. Ces cas représentent 72% des suspicions de brucellose déclarés à l'InVS pour la période de 1998 à 2000 [1]. Cette expertise est rendue difficile du fait du manque de spécificité des tests sérologiques utilisés couramment dans le diagnostic de la brucellose. Ce manque de spécificité est dû en grande partie aux réactions sérologiques croisées entre *Brucella* spp. et d'autres espèces bactériennes, en particulier *Yersinia enterocolitica* sérotype O9, responsable d'infections humaines dont la prévalence en France est actuellement supérieure à celle de la brucellose. Les techniques de biologie moléculaire basées sur la technique de PCR en temps réel, développées récemment, ont été appliquées avec succès pour le diagnostic rapide de certaines maladies infectieuses humaines telles que le charbon ou la légionellose [2][3]. Une seule publication fait état de l'utilisation de cette technique pour la détection et l'identification de *Brucella* sp., mais pour l'instant sans application chez l'homme [4]. Ces techniques présentent différents avantages par rapport aux techniques d'amplification antérieures : 1/ leur plus grande rapidité d'exécution ; 2/ la détection en temps réel et de façon très spécifique de l'amplification de l'ADN bactérien. En effet, la détection et l'identification de l'ADN amplifié se fait habituellement dans un deuxième temps, notamment après marquage spécifique de l'ADN en gel d'électrophorèse ou par séquençage de cet ADN. Les techniques de PCR en temps réel permettent une identification spécifique de l'ADN au fur et à mesure de son amplification par l'utilisation de sondes s'hybridant spécifiquement avec la séquence nucléotidique de l'ADN néoformé. Cette hybridation aboutit à un signal de fluorescence qui est enregistré par l'appareil d'amplification en temps réel qui sert également de fluorimètre. Cette technique permet également de mesurer la quantité d'ADN

cible présente initialement dans un échantillon donné, d'où son nom de PCR quantitative. Enfin, la possibilité de détecter une amplification génique sans manipulation supplémentaire évite une source fréquente de contamination de l'amplification et donc de faux positifs. 3/ cette technique peut être utilisée pour identification rapide du genre *Brucella* devant toute souche suspecte, ce qui permet de limiter l'exposition du personnel de laboratoire au risque infectieux lié à la culture des *Brucella*. Enfin, ces techniques d'amplification en temps réel ont été appliquées récemment avec succès à la détection de l'ADN de bactéries directement dans le sang de patients présentant une bactériémie.

Nous sommes en cours d'élaboration d'un test basé sur la technique d'amplification génique en temps réel (Light Cycler<sup>®</sup>, Roche) qui permettra d'améliorer la rapidité et la spécificité du diagnostic de brucellose. Nous avons ciblé dans un premier temps un gène codant pour une protéine de membrane externe de 31kDa (*omp31*), dont la séquence nucléotidique présente de nombreuses zones très conservées au sein du genre *Brucella* permettant de définir à la fois des amorces et des sondes nucléotidiques spécifiques de ce genre bactérien [5][6][7]. Notre objectif principal sera de pouvoir confirmer un diagnostic de brucellose lorsque la bactérie n'a pas pu être isolée, en particulier lorsqu'une antibiothérapie a précédé la réalisation des prélèvements pour mise en culture. Ce test sera appliqué aux prélèvements de sang ou sérum qui nous sont adressés actuellement dans le cadre de notre expertise sérologique.

## **Références**

- [1]. Institut de Veille Sanitaire. Surveillance Nationale des Maladies Infectieuses. La brucellose humaine en France de 1998 à 2000. p 199-201
- [2] Bell C.A., Uhl J.R., Hadfield T.L. et al. Detection of *Bacillus anthracis* DNA by Light Cycler PCR. J. Clin. Microbiol. 2002, 40 :2897-2902
- [3] Rantakokko-Jalava K. and J. Jalava. Development of conventional and real-time PCR assays for detection of *Legionella* DNA in respiratory specimens. J Clin Microbiol. 2001;39:2904-10.
- [4] Radkar R., Rose S., Bricker B. et al. Real-time detection of *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* and *Brucella suis*. Mol. Cell. Probes 2001, 15 :43-52
- [5] Sreevatsan S., Bookout J.B., Ringpis F. et al. A multiplex approach to molecular detection of *Brucella abortus* and/or *Mycobacterium bovis* infection in cattle. J. Clin. Microbiol. 2000, 38 :2602-2610
- [6] Morata P., Queipo-Ortuno M.I., and J. de D. Colmenero. Strategy for optimizing DNA amplification in a peripheral blood PCR assay used for diagnosis of human brucellosis. J. Clin. Microbiol. 1998, 36 :2443-2446
- [7] Matar G.M., Khneisser I.A., and A.M. Abdelnoor. Rapid laboratory confirmation of human brucellosis by PCR analysis of a target sequence of the 31-Kilodalton *Brucella* antigen DNA. J. Clin. Microbiol. 1996, 34 :477-478



## **CAHIER DES CHARGES DU CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DES *BRUCELLA***

La responsabilité du Centre National de Référence des *Brucella* est assurée par l'Unité Zoonoses Bactériennes (UZB) de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (Afssa). Le responsable du CNR est le Dr Bruno GARIN-BASTUJI, chef de cette unité à l'Afssa.

Pour la conduite de ses activités, le CNR *Brucella* reçoit l'appui du Laboratoire Associé au CNR, établi au Laboratoire de Bactériologie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Grenoble et dont la responsabilité incombe au Pr Max MAURIN.

Les missions du CNR et du Laboratoire associé telles que définies par l'appel à candidature du 15 avril 2002 sont les suivantes :

*Domaine de mission N°1. Apporter son expertise en appui au diagnostic pour les laboratoires d'analyse et de biologie médicale pour l'isolement, la détermination de l'espèce et le diagnostic sérologique,*

*Domaine de mission N°2. Contribuer à la surveillance épidémiologique en liaison avec l'Institut de Veille Sanitaire(InVS), notamment en : développant un système de surveillance basé sur un réseau de laboratoires sur l'ensemble du territoire ; contribuant à la déclaration obligatoire à la DDASS de la brucellose en déclarant les cas identifiés au CNR ; détectant des foyers de cas groupés et contribuer à leur investigation,*

*Domaine de mission N°3. Participer à des études de recherche appliquée,*

*Domaine de mission N°4. Mettre en œuvre des collaborations avec les spécialistes de la brucellose en santé animale (échange d'informations, échanges de souches, comparaison des caractéristiques des souches d'origine humaine, alimentaire et animale, développement d'études en commun, etc.),*

*Domaine de mission N°5. Contribuer avec l'Institut de Veille Sanitaire aux systèmes de surveillance européens (directive zoonoses 92/117/CEE, réseau de surveillance européen).*

L'objet de ce cahier des charges est de définir la répartition des principales missions et prérogatives du CNR d'une part, du laboratoire associé d'autre part, et tout particulièrement celles concernant les domaines de mission N°1, 2 et 5.

Concernant les relations entre les deux structures en matière de recherche appliquée et de développement (missions N°3 et 4), celles-ci devront faire l'objet d'une convention de collaboration spécifique.

## **MISSIONS SPECIFIQUES DU CNR (AFSSA) :**

*Domaine de mission N°1. Apporter son expertise en appui au diagnostic pour les laboratoires d'analyse et de biologie médicale pour l'isolement, la détermination de l'espèce et le diagnostic sérologique,*

Le CNR (Afssa) est en charge de l'expertise en matière de diagnostic bactériologique et au sens plus large du diagnostic de laboratoire direct des brucelloses.

Le CNR apporte son appui aux laboratoires d'analyse et de biologie médicale (LABM) pour l'isolement et l'identification présomptive des *Brucella*. Il est par ailleurs responsable de l'identification complète (typage), *a minima* phénotypique et, si nécessaire, moléculaire, des *Brucella*. Il est, à ce titre, le destinataire des souches suspectées d'être des *Brucella* par les LABM.

Il met également en œuvre, le cas échéant, des outils de détection, notamment moléculaires (PCR), lorsque, en particulier, les tentatives d'isolement par les méthodes bactériologiques classiques n'ont pas donné de résultat malgré une forte suspicion ou lorsque l'urgence du diagnostic est incompatible avec le délai incompressible de l'isolement classique. Il est à ce titre le destinataire des prélèvements destinés à la recherche directe de *Brucella*, de leurs antigènes ou de leurs acides nucléiques.

Il est en charge de la collection nationale des souches de *Brucella* d'origine humaine.

## **MISSIONS SPECIFIQUES DU LABORATOIRE ASSOCIE AU CNR (CHU GRENOBLE) :**

*Domaine de mission N°1. Apporter son expertise en appui au diagnostic pour les laboratoires d'analyse et de biologie médicale pour l'isolement, la détermination de l'espèce et le diagnostic sérologique,*

Le Laboratoire associé au CNR (CHU Grenoble) est en charge de l'expertise en matière de :

- ❑ Expertise clinique auprès des cliniciens ;
- ❑ Diagnostic de laboratoire immunologique (diagnostic indirect) des brucelloses :

Le Laboratoire Associé apporte son appui aux LABM pour la mise en oeuvre et l'interprétation des résultats des épreuves sérologiques courantes de détection des anticorps anti-*Brucella* chez l'Homme.

Il est le destinataire des prélèvements de sang ou des échantillons de sérum destinés au diagnostic immunologique.

Il est en charge de la collection nationale de sérums issus de cas suspects ou avérés de brucellose humaine.

Il met en œuvre par ailleurs, le cas échéant, des outils de détection immunologique destinés à affiner le diagnostic de brucellose (par rapport notamment aux réactions sérologiques non spécifiques liées à des infections par des agents croisant au plan antigénique) et à déterminer le cas échéant le caractère aigu ou chronique de l'affection.

## **MISSIONS COMMUNES AU CNR ET AU LABORATOIRE ASSOCIE AU CNR :**

*Domaine de mission N°2. Contribuer à la surveillance épidémiologique en liaison avec l'InVS, notamment en : développant un système de surveillance basé sur un réseau de laboratoires sur l'ensemble du territoire ; contribuant à la déclaration obligatoire à la DDASS de la brucellose en déclarant les cas identifiés au CNR ; détectant des foyers de cas groupés et contribuer à leur investigation,*

*Domaine de mission N°5. Contribuer avec l'InVS aux systèmes de surveillance européens (directive zoonoses 92/117/CEE, réseau de surveillance européen).*

Pour remplir ces deux missions les deux laboratoires sont, chacun en ce qui les concerne, en relation permanente avec l'InVS. Un échange régulier par courrier électronique et téléphone permet d'harmoniser les informations sur les cas reçus par l'InVS et les résultats des analyses réalisées par le CNR et le Laboratoire associé.

Compte tenu de son expérience et de sa connaissance dans le domaine des brucelloses animales, le CNR est tout particulièrement chargé de l'appui à l'InVS en matière d'épidémiologie de la brucellose animale et leur lien éventuel avec la situation de la brucellose humaine.

La fiche descriptive jointe qui définit la répartition des tâches entre CNR et laboratoire associé sert de base à l'information des LABM. Elle sera complétée par une fiche précisant les modalités d'envoi des souches et prélèvements de bactériologie/PCR au CNR et celui des prélèvements pour analyses sérologiques au laboratoire associé.

## **COLLABORATION SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE ENTRE LE CNR, LE LABORATOIRE ASSOCIE AU CNR ET D'AUTRES LABORATOIRES DE RECHERCHE INTERESSES PAR LA BRUCELLOSE :**

*Domaine de mission N°4. Participer à des études de recherche appliquée,*

*Domaine de mission N°5. Mettre en œuvre des collaborations avec les spécialistes de la brucellose en santé animale (échange d'informations, échanges de souches, comparaison des caractéristiques des souches d'origine humaine, alimentaire et animale, développement d'études en commun, etc.),*

La collaboration entre le CNR (qui est également LNR et Laboratoire OIE/FAO de référence pour les Brucelloses animales) et le laboratoire associé pourra porter tant sur le diagnostic immunologique, (développement, standardisation et validation des tests) que sur le diagnostic direct (bactériologique et moléculaire) pour lequel le CNR dispose d'une expérience reconnue depuis plus de 20 ans. Cette collaboration sera définie dans une convention de collaboration signée entre l'AFSSA et le laboratoire associé.

La collection de souches dont dispose d'ores et déjà le CNR (souches types, souches de référence, souches vaccinales, souches destinées à la fabrication de réactifs immunologiques et souches de terrain humaines et animales, françaises et étrangères) ainsi que la sérothèque de référence (destinée à la standardisation nationale et internationale des réactifs de diagnostic en brucellose animale) seront accessibles dans les conditions définies dans la convention de collaboration entre CNR et laboratoire associé et les conventions de recherche qui pourront en découler.



## Centre National de Référence des *Brucella*

### Activités :

*Identification et typage des souches de Brucella*  
*Expertise épidémiologique*

### Responsable :

Dr Vre Bruno GARIN-BASTUJI

### Adresse :

Unité Zoonoses Bactériennes  
Laboratoire d'Etudes et de Recherches en Pathologie Animale et Zoonoses  
Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA)  
BP 67  
94703 Maisons-Alfort Cedex

Tel. 01 49 77 13 23  
Fax. 01 49 77 13 44  
e-mail. [b.garin@afssa.fr](mailto:b.garin@afssa.fr)

Contacts CNR *Brucella* : David Albert Tel. 01 49 77 12 63 e.mail : [d.albert@afssa.fr](mailto:d.albert@afssa.fr)  
Martine Thiébaud Tel. 01 49 77 38 83 e.mail : [m.thiebaud@afssa.fr](mailto:m.thiebaud@afssa.fr)

Standard Laboratoire : 01 49 77 13 00  
Fax central : 01 43 68 97 62

## Laboratoire associé au CNR des *Brucella*

### Activités :

*Expertise sérologique*  
*Expertise clinique*

### Responsable :

Pr Max MAURIN

### Contacts Laboratoire associé CNR :

Dr. J. Croizé, Dr. C. Recule, Dr. I. Pelloux

### Adresse :

Laboratoire de Bactériologie  
CHU de Grenoble  
BP 217  
38043 Grenoble Cedex 09

Tel. 04 76 76 54 79  
Fax. 04 76 76 59 12  
e-mail. [mmaurin@chu-grenoble.fr](mailto:mmaurin@chu-grenoble.fr)  
Standard Hôpital : 04 76 76 75 75



Liste des souches humaines reçues au CNR *Brucella* en 2002

n° de dossier	Date de réception	pays d'origine	dpt d'origine	Genre	Espèce	Biovar
02/4188	16-mai-02	F	13	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3
02/4221	17-mai-02	F	53	<i>Brucella</i>	<i>abortus</i>	3
02/4222	17-mai-02	F	75	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3
02/4863	15-juin-02	F	92	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/5258	08-juil-02	F	80	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3
02/5259	08-juil-02	F	64	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3
02/5276	09-juil-02	F	78	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/5404	15-juil-02	F	53	<i>Brucella</i>	<i>abortus</i>	3
02/5451	18-juil-02	F	63	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3
02/5792	08-août-02	F	63	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3
02/5794	08-août-02	F	31	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/6425	12-sept-02	F	06	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	R
02/6475	16-sept-02	F	63	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3
02/6501	17-sept-02	F	93	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/6525	18-sept-02	F	77	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3
02/6907	09-oct-02	F	62	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/8035	06-déc-02	F	987	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	1
02/8197	18-déc-02	F	06	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3
02/8287	23-déc-02	F	93	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3
02/3953	06-mai-02	Inde	0	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1

**Détail des informations relatives aux souches humaines d'origine française reçues au CNR *Brucella* en 2002**

N°	N° Dossier AFSSA	Date réception AFSSA	Date prélèvement isolement	Demandeur	Dépt	Patient				Source d'isolement	Isolement bactériologique			
						Nom	Prénom	Age	Commémoratifs		Genre	Espèce	Biovar	Particularité
1	02.4221	17/05/02	P 05/03/02 Is 07/03/02	CH Laval via Institut Pasteur Paris (CIMB)	53	J	Ars	21-50	Milieu rural, Infection ostéo-articulaire	Hémoculture & liquide articulaire	<i>Brucella</i>	<i>abortus</i>	3	Néant
2	02.4222	17/05/02	?	CHU Pitié-Salpêtrière via Institut Pasteur Paris (CIMB)	75	G	Esp	27	Origine portugaise	Hémoculture	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3	Néant
3	02.4863	15/06/02	?	Hôp. Max Fourestier, Nanterre	92	P	JH	59	Voyage en Inde	non indiqué	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1	M ++++ A + (type indien)
4	02.5257	08/07/02	P 05/03/02 Is 07/03/02	CH Laval	53	J	Ars	47	?	Hémoculture & liquide articulaire	Non retypée (car souche identique 02.4221)			
5	02.5258	08/07/02	Is 01/07/02	CHU Amiens	80	F	Ade	??	Origine portugaise	Hémoculture	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3	Néant
6	02.5259	08/07/02	?	CHR Pau	64	S	Pie	15	Vacher RB+ SAW 1/2560	Hémoculture	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3	Néant
7	02.5276	09/07/02	Is 30/06/02	CH St Germain en Laye	78	RG	MJ	??	Foyer Grenade Espagne	Hémoculture	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1	Néant
8	02.5404	15/07/02	P 26/06/02	CH Laval	53	J	Ars	47	Même patient que 02.4221	Contrôle à 3 mois de traitement (ponction articulaire le 26/06/02)	<i>Brucella</i>	<i>abortus</i>	3	Néant
9	02.5451	18/07/02	Is 04/07/02	Labo Lachartre-Lafeuille 63400 Chamalières	63	E	JF	?	Œdème larynx Endocardite Mozarella Bufflone Voyage Sicile	Hémoculture	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3	Néant
10	02.5792	08/08/02	Is 27/06/02	CHU Clermont-Ferrand	63	E	JF	60	-	Hémoculture	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3	même que 5451
11	02.5794	08/08/02	Is 09/07/02	CHU de Toulouse	31	M	Cla	30	Voyage Tanzanie	Hémoculture	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1	Néant
12	02.6425	12/09/02	Is 30/08/02	CH Cannes	06	C	Leo	62	Ancien berger au Portugal	Hémoculture et ponction articulaire du coude	<i>Brucella melitensis en phase R (biovar non déterminable)</i>			
13	02.6475	16/09/02	09/09/02	CHU Clermont-Ferrand	63	E	Eli	60	Mozarella Bufflone Voyage Sicile	Hémoculture	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3	Epouse de J.F E
14	02.6501	17/09/02	13/09/02	CHI Le Raincy Montfermeil	93	DOH	Cel	34	Voyage Portugal (Fromage de chèvre provenant d' une ferme)	Hémoculture	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1	Néant
15	02.6525	18/09/02	12/09/02	CHG de Montereau	77	A	Has	68	Turc revenant de son pays avec fièvre et arthrite du genou	Hémoculture	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3	Néant

**Détail des informations relatives aux souches humaines d'origine française reçues au CNR *Brucella* en 2002 (suite)**

N°	N° Dossier AFSSA	Date réception AFSSA	Date prélèvement isolement	Demandeur	Dépt	Nom	Prénom	Age	Commémoratifs	Source d'isolement	Genre	Espèce	Biovar	Particularité
16	02.6688	27/09/02	18/09/02	Labo Lachartre-Lafeuille 63400 Chamalières	63	E	Eli	60	Mozarella Bufflone Voyage Sicile	Hémoculture				Non retypée (car souche identique 02.6475)
17	02.6907	09/10/02	04/10/02	Polyclinique de Riaumont (Liévin)	62	B	Man	65	Fromage de chèvre frais	Biopsie vertébrale	<i>Brucella (résistante aux phages) Espèce vraisemblable: melitensis; Biovar vraisemblable: 1</i>			
18	02.6992	16/10/02	08/10/02	Hôpital FOCH	92	C	Ala	jh	Séjour dans les Alpes et consommation de fromage de chèvre frais	Vertèbre cervicale	<i>Echantillon contaminé (nouvel envoi: cf n° 02.7373)</i>			
19	02.7373	05/11/02	08/10/02	Hôpital FOCH	92	C	Ala	jh	Séjour dans les Alpes et consommation de fromage de chèvre frais	Vertèbre cervicale	<i>Cette souche n'est pas une Brucella</i>			
20	02.7384	05/11/02	30/10/02	Hôpital de la Croix Saint Simon	75	DS	Nasc	42	Va souvent au Portugal et s'occupe d'un troupeau de mouton	Biopsie vertébrale	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3	souche partiellement R - plutôt sensible sur fuchsine
21	02.8035	06/12/02	NC	Centre Hospitalier de Mamao Papeete Tahiti	98	T	Eug	44	NC	Hémoculture	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	1	biovar isolé en 02 sur foyer porcin élevage en Polynésie Française
22	02.8197	18/12/02	11/12/02	Centre Hospitalier de Grasse	06	B	Wah	29	Aucun	Hémoculture	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3	Néant
23	02.8287	23/12/02	28/11/02	Hôpital Avicenne	93	O	Sai	NC	Consommation de fromage frais à Constantine	Hémoculture	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3	Néant

Liste des souches animales reçues au CNR *Brucella* en 2002

n° de dossier	Date de réception	pays d'origine	dpt demandeur	dpt d'origine	espèce animale	Genre	Espèce	Biovar
02/1213	14-févr-02	F	64	64	bovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3
02/3953	06-mai-02	Inde	0	0	buffle	<i>Brucella</i>	<i>abortus</i>	R
02/0576	15-janv-02	F	49	49	lièvre	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/5793	08-août-02	F	42	42	lièvre	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/7277	29-oct-02	F	49	49	lièvre	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/7277	29-oct-02	F	49	49	lièvre	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/7563	13-nov-02	F	38	38	lièvre	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/8117	12-déc-02	F	57	57	lièvre	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/4670	05-juin-02	F	31	31	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	3
02/3953	06-mai-02	Inde	-	-	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/3953	06-mai-02	Inde	-	-	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/3953	06-mai-02	Inde	-	-	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/3953	06-mai-02	Inde	-	-	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/3953	06-mai-02	Inde	-	-	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/3953	06-mai-02	Inde	-	-	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/3953	06-mai-02	Inde	-	-	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/3953	06-mai-02	Inde	-	-	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/3953	06-mai-02	Inde	-	-	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/3953	06-mai-02	Inde	-	-	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/3953	06-mai-02	Inde	-	-	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/5863	13-août-02	Inde	-	-	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/5863	13-août-02	Inde	-	-	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/5863	13-août-02	Inde	-	-	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/5863	13-août-02	Inde	-	-	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/5863	13-août-02	Inde	-	-	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/5863	13-août-02	Inde	-	-	ovin	<i>Brucella</i>	<i>melitensis</i>	1
02/0058	07-janv-02	F	22	49	porc	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/0058	07-janv-02	F	22	49	porc	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/4236	17-mai-02	F	72	72	porc	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/5382	16-juil-02	F	72	72	porc	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/7729	21-nov-02	F	03	03	porc	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/7564	13-nov-02	F	37	37	sanglier	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/7564	13-nov-02	F	37	37	sanglier	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/7888	28-nov-02	F	73	51	sanglier	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/7888	28-nov-02	F	73	51	sanglier	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/7888	28-nov-02	F	73	51	sanglier	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/7888	28-nov-02	F	73	51	sanglier	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/7888	28-nov-02	F	73	51	sanglier	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2
02/8006	04-déc-02	F	35	35	sanglier	<i>Brucella</i>	<i>suis</i>	2



9 de Maisons-Alfort

LABORATOIRE D'ETUDES ET DE RECHERCHES EN  
PATHOLOGIE ANIMALE ET ZONOOSES



Unité Zoonoses  
Bactériennes

Centre National de  
Référence des *Brucella* &  
*Francisella*

Laboratoire associé au  
CNR du Charbon  
Laboratoire National de  
Référence pour la  
*Brucellase*, le Charbon  
bactérien, les  
Mycobactéries et la  
Tularemie animales et  
pour la *Chlamydia*  
aviaire

Laboratoire de Référence  
O.I.E./FAO pour la  
*Brucellase*, la  
Paratuberculose et la  
Tuberculose animales

## CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DES BRUCELLA

### Identification et typage des souches de *Brucella*

Dans le cadre de notre activité de CNR, nous assurons (gracieusement) l'identification et le typage des souches de *Brucella*. La détention et la cession de souches de *Brucella* sont soumises à une réglementation spécifique. Vous trouverez les principales recommandations et mesures à respecter dans le document « Procédure d'envoi de souche de *Brucella* au CNR ».

Les souches sont à expédier dans les conditions précisées dans ce document à l'adresse suivante :

Dr. B. Garin-Bastuji  
Chef d'Unité

Ligne directe:  
01 49 77 13 23

Fax direct  
01 49 77 13 44

E-mail  
[b.garin@afssa.fr](mailto:b.garin@afssa.fr)

**CNR des *Brucella***  
**Unité Zoonoses Bactériennes**  
**Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA)**  
**22, rue Pierre-Curie - BP 67**  
**94703 Maisons-Alfort Cedex**

Pour toute demande d'information, merci de contacter les personnes suivantes :

- Dr. Bruno Garin-Bastuji	Tél. 01 49 77 13 23	Fax. 01 49 77 13 44	e.mail : <a href="mailto:b.garin@afssa.fr">b.garin@afssa.fr</a>
- David Albert	Tél. 01 49 77 38 83	Fax. 01 49 77 13 44	e.mail : <a href="mailto:d.albert@afssa.fr">d.albert@afssa.fr</a>
- Martine Thiébaud	Tél. 01 49 77 38 83	Fax. 01 49 77 13 44	e.mail : <a href="mailto:m.thiebaud@afssa.fr">m.thiebaud@afssa.fr</a>
- Standard Laboratoire	Tél. 01 49 77 13 00		
- Fax central :	Tél. 01 43 68 97 62		

N.B. :

- Le CNR est en mesure d'effectuer sur demande des analyses de PCR sur prélèvement de sang ou de biopsie. Merci de nous contacter au préalable pour toute demande d'analyse de cet ordre.
- Dans le cadre de ses activités de Laboratoire National de Référence, notre laboratoire réalise également l'ensemble des analyses bactériologiques ou de PCR sur prélèvements et souches de *Brucella* d'origine animale ou alimentaire.
- Pour toute demande d'analyse sérologique, prendre contact avec le laboratoire associé au CNR (Pr. Max Maurin, Laboratoire de Bactériologie, CHU de Grenoble, BP 217, 38043 Grenoble Cedex 09 – Tél. 04 76 76 54 79)

rue Pierre Curie  
BP 67, 94703  
Maisons-Alfort cedex  
Tél. 01 49 77 13 00  
Fax 01 43 68 97 62  
[www.afssa.fr](http://www.afssa.fr)

Dr. Vre B. Garin-Bastuji  
Responsable du CNR des *Brucella*



Site de Maisons-Alfort

LABORATOIRE D'ETUDES ET DE RECHERCHES EN  
PATHOLOGIE ANIMALE ET ZOONOSES



Unité Zoonoses  
Bactériennes

Centre National de  
Référence des *Brucella* &  
*Francisella*

Laboratoire associé au  
CHR du Châteauneuf

Laboratoire National de  
Référence pour la  
Brucellose, le Châton  
bactérien, les  
Mycobactéries et la  
Tularémie animales et  
pour la Chlamydiae  
ovine

Laboratoire de Référence  
O.I.E./FAD pour la  
Brucellose, la  
Paratuberculose et la  
Tuberculose animales

David ALBERT  
Responsable Adjoint  
Bactériologie  
Brucellose

Ligne directe  
01 49 77 38 83

Fax direct  
01 49 77 13 44

E-mail  
d.albert@afssa.fr

22, rue Pierre Curie  
BP 67 94703  
Maisons-Alfort cedex  
Tél 01 49 77 13 00  
Fax 01 19 77 13 44  
www.afssa.fr

REPUBLIQUE  
FRANÇAISE

Maisons-Alfort, 16/05/03

Madame, Monsieur,

Vous trouverez ci-joint, suite à votre demande :

- une boîte de transport pour micro-organismes de classe 3 (triple emballage normalisé)
- une fiche de présentation du CNR *Brucella*
- une procédure synthétique d'envoi de souche
- une fiche de demande d'identification de *Brucella* (acte gratuit), à placer à l'extérieur du colis
- une fiche de signalement à expédier directement à l'adresse indiquée (InVS)
- une fiche de demande d'autorisation de cession et transport à retourner à l'Afssaps (par courrier ou fax)

De plus nous vous communiquons les coordonnées des personnes à contacter à l'Afssaps en cas de problème :

M. Dominique MASSET ou Md. Stéphanie BELARD  
AFSSAPS, DEMEB, Unité Veille Toxicologique  
143/147 Bd Anatole-France, 93285 Saint-Denis Cedex  
Tel : 01 55 87 35 84 (35 83)- Fax : 01 55 87 35 82  
e.mail : [dominique.masset@afssaps.sante.fr](mailto:dominique.masset@afssaps.sante.fr)  
[stephanie.belard@afssaps.sante.fr](mailto:stephanie.belard@afssaps.sante.fr)

A l'occasion de la première demande, une autorisation d'acquisition et de mise en oeuvre vous sera délivrée. Il faudra la conserver dans l'hypothèse où vous seriez amené à renouveler cette démarche. Par contre, l'autorisation de cession et transport n'est pas permanente et doit être renouvelée à chaque fois.

Pour information, le numéro personnel d'autorisation d'acquisition de détention et de mise en oeuvre permanente qui m'a été attribué par l'Afssaps est le : **F - 0287AFS12002 - 3**.

Enfin, je me permets de vous rappeler que ces dispositions ne concernent que l'application de l'arrêté ministériel du 22 septembre 2001 et que les autres exigences prévues par la réglementation sur le transport des matières dangereuses doivent également être respectées (triple emballage normalisé, transporteur agréé, lettre de transport).

En vous remerciant d'avance pour votre collaboration,

Dr. B. Garin-Bastuji



## CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DES *BRUCELLA*

### Procédure d'envoi de souche de *Brucella* au CNR

- **Dispositions concernant l'application de l'arrêté ministériel du 22 septembre 2001 :**

⇒ L'expéditeur doit demander auprès de l'AFSSAPS (par fax ou mail) deux documents :

- ① *Autorisation permanente d'acquisition et mise en œuvre (ce document est obtenu lors de la première demande et doit être conservé ensuite pour de futures demandes)*
- ② *Autorisation de cession et transport (valable 1 mois et pour une seule fois)*

⇒ L'AFSSAPS envoie au demandeur les deux documents :

Le document ① est envoyé par courrier.

Le document ② est envoyé, par courrier mais peut être envoyé par fax dans un premier temps afin que la souche soit transportée le plus rapidement possible vers le CNR.

Le document ② se compose de deux feuillets, le premier à conserver par l'expéditeur et le second à remettre au transporteur.

⇒ Transport de la souche :

L'exemplaire du document ② remis au transporteur est remis par celui-ci à l'AFSSA en même temps que le colis. L'AFSSA en fait une copie pour archive et retourne l'original du document à l'AFSSAPS.

- **Autres exigences réglementaires (transport des matières dangereuses) :**

- triple emballage normalisé
- transporteur agréé
- lettre de transport.

Pour connaître les dispositions prévues par la réglementation sur le transport des matières dangereuses et obtenir la liste des transporteurs agréés vous pouvez consulter le site :

<http://www.pasteur.fr/sante/clre/chap/envois/accueil.html>

Un triple emballage agréé peut vous être fourni gracieusement sur demande.

#### Contact à l'AFSSAPS

Dominique MASSET ou Stéphanie BELARD  
AFSSAPS, DEMEB, Unité Veille Toxicologique  
143/147 Bd Anatole-France,  
93285 Saint-Denis Cedex  
Tel : 01 55 87 35 84 - Fax : 01 55 87 35 82  
e.mail : [dominique.masset@afssaps.sante.fr](mailto:dominique.masset@afssaps.sante.fr)  
[stephanie.belard@afssaps.sant.fr](mailto:stephanie.belard@afssaps.sant.fr)

#### Contact au CNR *Brucella*

Bruno GARIN BASTUJI  
CNR des *Brucella*, Unité Zoonoses  
Bactériennes  
AFSSA - LERPAZ  
22, rue Pierre Curie - BP 67  
94703 Maisons-Alfort Cedex  
Tel : 01 49 77 13 00 - Fax : 01 49 77 13 44  
e-mail : [b.garin@afssa.fr](mailto:b.garin@afssa.fr)

**Fiche de demande d'identification de *Brucella***

Les souches isolées doivent être envoyées à l'adresse suivante :

CNR des *Brucella*  
Unité Zoonoses Bactériennes  
AFSSA  
22, rue Pierre Curie  
BP 67  
F – 94703 Maisons-Alfort Cedex  
Tel 01- 49 77 13 00

Cette fiche doit accompagner l'envoi de la souche isolée et être dans une enveloppe à l'extérieur du colis contenant la souche.

**Coordonnées du biologiste expéditeur**

Nom : \_\_\_\_\_

Laboratoire : \_\_\_\_\_

Adresse : \_\_\_\_\_ Code postal : \_\_\_\_\_ Ville : \_\_\_\_\_

Téléphone : \_\_\_\_\_ Fax : \_\_\_\_\_

**Coordonnées du patient :**

Nom : \_\_\_\_\_ Prénom : \_\_\_\_\_ Age : \_\_\_\_\_

Date d'isolement de la souche : \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_

Mode d'isolement de la souche :

- Hémoculture
- Biopsie  (préciser l'organe biopsié) : \_\_\_\_\_

Nature du milieu de transport utilisé : \_\_\_\_\_

## RAPPORT D'ACTIVITE SYNTHETIQUE (CNR) (17 MAI – 31 DECEMBRE 2002)

### I) Activité analytique

I.1 Nombre d'analyses et de prélèvements reçus

*NB : l'ensemble des prestations assurées par le CNR Brucella l'ont été à titre gratuit.*

Nombre total de souches reçues	<u>23</u>
Nombre de souches reçues via par le réseau de laboratoires	23
Nombre de souches reçues pour diagnostic (analyse refacturée)	Sans objet
Nombre total de prélèvements reçus	1 (ADN leucocytes sanguins pour PCR)
Nombre de prélèvements reçus via le réseau de laboratoires	1
Nombre de prélèvements reçus pour diagnostic (analyse refacturée)	Sans objet

I.2 Coût des techniques analytiques mises en œuvre

I 2 1 : pour l'isolement

*Aucun prélèvement d'origine humaine n'est traité au CNR, seules des souches préalablement isolées par les LABM ou de l'ADN préalablement extrait par ceux-ci sont pris en charge au CNR. Les sérologies sont assurées par le laboratoire associé (cf rapport joint en annexe)..*

Etapas analytiques pour l'isolement de la souche	Coût de l'analyse à la nomenclature	Coût moyen estimé de l'analyse *
Néant		

I 2 2 : pour l'identification du genre et de l'espèce

Etapes analytiques pour l'identification des souches	Coût de l'analyse à la nomenclature	Coût moyen estimé de l'analyse ***
Identification et typage de <i>Brucella</i> (biochimie, sérotypage, lysotypie)	Néant	41,00 Euros HT**
Identification de <i>Brucella</i> spp. par PCR	Néant	35,00 Euros HT**
Total pour 2002	23*41 + 1 * 35	978,00 Euros

**\*\* Tarif officiel AFSSA (inférieur au coût réel)**

I.3 Autres analyses réalisées dans le cadre de l'expertise sur les souches (typage, résistance aux antibiotiques...) :

Autres analyses (préciser)	Nombre d'analyses réalisée	Coût de l'analyse à la nomenclature	Coût moyen estimé de l'analyse *
Outils moléculaires de différenciation d'espèce ou de souche	Néant **	Néant	35,00 Euros

\*ce coût moyen estimé doit prendre en compte les coûts de réactif et de petit matériel, les coûts de personnel, l'amortissement du matériel et les frais de maintenance

**\*\* Analyse réalisée en 2002 en collaboration avec un laboratoire de recherche – technique désormais acquise par le CNR**

I 4 Matériel, réactifs et consommables

Chiffrer le coût moyen du contrôle qualité, des matériels, réactifs et consommables par rapport aux protocoles analytiques écrits.

	Contrôle qualité	Réactifs et consommables	Amortissement et entretien du matériel
Isolement			
Identification			
Autres analyses (préciser)			

## I.5 Moyens en personnel :

Catégories de personnel	<u>ETP</u>	<u>Coût salarial total</u> <u>par catégorie***</u>
Aide technique	30 %	11679 * 0.3
Technicien de laboratoire	60%	11679 *0.6
Biologiste	Néant	
Autres (préciser)		
Directeur de Recherche	15%	17695 * 0.15
Ingénieur d'Etudes	40%	17695 * 0.40
	TOTAL	20243.35 Euros

\* salaires plus charges

**\*\* Personnels permanents Afssa : le temps consacré pour le fonctionnement du CNR est pris sur le temps normalement dédié aux activités d'appui scientifique et technique et de recherche dans le cadre des missions normales de l'Afssa en matière vétérinaire et alimentaire. Le coût salarial correspond à un forfait de fonctionnement du personnel Afssa établi au plan national par le siège de l'Agence. L'attribution d'un poste de technicien telle que demandée par l'Afssa en 2002, permettrait à l'Afssa de fournir en personnel permanent : 1 directeur de recherche, un ingénieur d'études, un technicien et deux agents techniques à 15 % de leur temps.**

## II) Autres activités

### II. 1 Données d'activité

Nombre de souches dans le souchothèque	2000 souches
Nombre de laboratoires participants au réseau	Tous (pas de réseau formel)
Nombre de courriers échangés avec les membres du réseau	Une trentaine**
Nombre de cas investigués	27 sérologies (16 patients) 23 souches (17 patients)
Nombre de participation à des réunions organisées dans le cadre de ces investigations	Néant (2 réunions générales InVS-CNR)

Nombre de jours de formation organisés	Néant
Nombre de personnes formées	Néant
Nombre de stagiaires encadrés par le CNR	17***
Nombre d'appels pour conseil	Une centaine (y compris e-mails)
Nombre de publications et/ou communications relatives aux activités des CNR	6

**\*\* Information générale sur le CNR Brucella envoyée aux LABM par l'InVS.**

**\*\*\* Hors cadre CNR, dans le cadre de ses missions de LNR (agriculture) et de laboratoire international de référence brucellose (Office International des Epizooties, FAO)**

## II.2 Surveillance et expertise

Evaluer les coûts de personnel et les frais de fonctionnement (hors structure) afférents aux activités listées dans le tableau ci-dessous en année pleine.

**Ces coûts sont intégrés dans les moyens décrits en 1.5**

<b>Activité</b>	Fonctionnement	<b>Personnel</b>		
		qualification	ETP	Salaire + charges
<b>Constitution et entretien d'une souchothèque</b>				
<b>Animation de réseau (hors formation)</b>	Néant	Néant	Néant	Néant
<b>Investigation d'épidémies</b>	Néant	Néant	Néant	Néant
<b>Activité de conseil</b>				
<b>Autre activité (préciser)</b>				

### II.3 Etudes et recherche

Evaluer les coûts de personnel et les frais de fonctionnement (hors structure) afférents aux activités listées dans le tableau ci-dessous en année pleine

*Sans objet car les études et recherches sont menées dans le cadre strict des missions Afssa dans l'attente d'un financement spécifique par le ministère de la Santé*

<u>Activité</u>	Fonctionnement	<u>Personnel</u>		
		qualification	ETP	Salaire + charges
<b>Mise au point de test de diagnostic</b> Préciser :				
<b>Mise au point de méthode analytique</b> Préciser :				
<b>Participation à des études</b> Préciser :				
<b>Autre activité (préciser)</b>				

### II.4 Valorisation des travaux

Evaluer les coûts de personnel et les frais de fonctionnement (hors structure) afférents aux activités listées dans le tableau ci-dessous en année pleine

*Sans objet car ces actions sont assurées dans le cadre strict des missions Afssa dans l'attente d'un financement spécifique par le ministère de la Santé*

<u>Activité</u>	Fonctionnement	<u>Personnel</u>		
		qualification	ETP	Salaire + charges
<b>Formation</b> Préciser :				
<b>Publications – communications</b>				

Préciser (cf annexe)				
<b>Autres</b> (préciser)				

II.5 Tableau récapitulatif du personnel participant à l'activité CNR hors activité analytique en année pleine  
 Ces coûts sont intégrés dans les moyens décrits en 1.5

Catégories de personnel	<b><u>ETP</u></b>	<b><u>Coût salarial total par catégorie*</u></b>
Secrétariat		
Aide technique		
Technicien de laboratoire		
Biologiste		
Autres (préciser)		
	<b>TOTAL</b>	

**Laboratoire associé au Centre National de Référence des Brucella  
Arrêté du 8 octobre 2002**

**Service de Bactériologie - Virologie  
Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble**

Pr. M. Maurin, Dr. J. Croizé, Dr. C. Recule, Dr. I. Pelloux  
Laboratoire de Bactériologie  
CHU de Grenoble, BP 217 – 38043 Grenoble Cedex 09  
Tel. 04 76 76 54 79. Fax. 04 76 76 59 12  
e-mail : mmaurin@chu-grenoble.fr



**Fiche de renseignements concernant le diagnostic de la Brucellose**

Chère Consœur, Cher Confrère,

Dans le cadre de notre activité de laboratoire associé au CNR des *Brucella*, nous mettons à votre disposition (gratuitement) des tests diagnostiques permettant de confirmer les cas humains de brucellose.

Les prélèvements nécessaires à une confirmation du diagnostic de brucellose sont:

**Au minimum**

- du sérum pour la réalisation des sérologies spécifiques : un tube sec contenant au moins 0.5 ml de sérum, adressé à température ambiante (si possible sans congélation préalable), le plus rapidement possible (idéalement en Chronopost). Au moins deux sérums prélevés à au moins 15 jours d'intervalle sont habituellement nécessaires pour confirmer un diagnostic de brucellose. Si plusieurs sérums ont été prélevés, l'envoi d'un échantillon de chacun d'eux est préférable.

**Eventuellement**

- du sang prélevé en tube contenant de l'EDTA (ou éventuellement un autre anticoagulant) pour la réalisation de tests de biologie moléculaire

**Le cas échéant**

- la souche isolée, adressée **pour confirmation et typage** directement au CNR :

Unité Zoonoses Bactériennes  
Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA)  
**22 rue Pierre-Curie**  
BP 67, 94703 Maisons-Alfort Cedex

Veuillez agréer, Chère Consœur, Cher Confrère, nos salutations distinguées.

Pr. M. Maurin      Dr. J. Croizé      Dr. C. Recule      Dr. I. Pelloux

**CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE GRENOBLE**  
BP 217, 38043 Grenoble Cedex 09 standard 04 76 76 75 75

**Laboratoire associé au Centre National de Référence des Brucella  
Arrêté du 8 octobre 2002**

**Service de Bactériologie - Virologie  
Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble  
Tel. 04 76 76 54 79. Fax. 04 76 76 59 12  
e-mail : mmaurin@chu-grenoble.fr**

**Pr. M. Maurin  
Dr. J. Croizé, Dr. C. Recule, Dr. I. Pelloux  
Laboratoire de Bactériologie  
CHU de Grenoble, BP 217 – 38043 Grenoble Cedex 09**



**Nom, prénom:**

**Né le:**

**Age:**

**Sexe:**

**Laboratoire demandeur:**

<b>SERUM DU : :</b>				
<b>SEROLOGIE BRUCELLA</b>				
<b>Rose Bengale :</b>				
<b>Wright :</b>				
<b>Ig totales (IF) :</b>				
<b>IgM (IF) :</b>				
<b>IgG (IF) :</b>				
<b>SEROLOGIE YERSINIA</b>				
<b><i>Y. enterocolitica</i> O3 :</b>				
<b><i>Y. enterocolitica</i> O9 :</b>				
<b><i>Y. pseudotuberculosis</i> :</b>				

**CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE GRENOBLE  
BP 217, 38043 Grenoble Cedex 09 standard 04 76 76 75 75**

**RAPPORT D'ACTIVITE SYNTHETIQUE**  
**LABORATOIRE ASSOCIE AU CNR DES BRUCELLA**  
**ANNEE 2002**

## I) Activité analytique

## I.1 Nombre d'analyses et de prélèvements reçus

Nombre total de souches reçues	<b><u>Sans objet</u></b>
Nombre de souches reçues via par le réseau de laboratoires	<b><u>Sans objet</u></b>
Nombre de souches reçues pour diagnostic (analyse refacturée)	<b><u>Sans objet</u></b>
Nombre total de prélèvements reçus	27
Nombre de prélèvements reçus via le réseau de laboratoires	27
Nombre de souches reçues pour diagnostic (analyse refacturée)	<b><u>Sans objet</u></b>

## I.2 Coût des techniques analytiques mises en œuvre

## I 2 1 : pour l'isolement

Indiquer dans les tableaux ci-dessous les différentes étapes analytiques mises en œuvre pour l'isolement et l'identification de la souche ainsi que le coût de chacune de ces étapes, par référence à la nomenclature ou, le cas échéant, le coût estimé sur les mêmes bases de calcul que ceux de la nomenclature.

Etapes analytiques pour l'isolement de la souche	Coût de l'analyse à la nomenclature	Coût moyen estimé de l'analyse *
<b>Sans objet</b>		

## I 2 2 : pour l'identification du genre et de l'espèce

Etapes analytiques pour l'identification des souches	Coût de l'analyse à la nomenclature	Coût moyen estimé de l'analyse *
<b>Sans objet</b>		

## I.3 Autres analyses réalisées dans le cadre de l'expertise sur les souches (typage, résistance aux antibiotiques...) : (évaluation sur 4 mois)

Autres analyses (préciser)	Nombre d'analyses réalisées	Coût de l'analyse à la nomenclature	Coût moyen estimé de l'analyse *
Test d'agglutination dur lame (Rose Bengale)	27	} B45	} 26 €
Test d'agglutination en tube (Wright)	27		
Immunofluorescence indirecte (IgG et IgM)	27	B60	49 €
Sérologie Yersinia enterocolitica O:9 :	27	B40	34 €

\*ce coût moyen estimé doit prendre en compte les coûts de réactif et de petit matériel, les coûts de personnel, l'amortissement du matériel et les frais de maintenance

## I 4 Matériel, réactifs et consommables (évaluation sur 4 mois)

Chiffrer le coût moyen du contrôle qualité, des matériels, réactifs et consommables par rapport aux protocoles analytiques écrits.

	Contrôle qualité	Réactifs et consommables	Amortissement et entretien du matériel
Isolement			
Identification			
Autres analyses (préciser)			
Test d'agglutination dur lame (Rose Bengale)		} 117 €	
Test d'agglutination en tube (Wright)			
Immunofluorescence indirecte (IgG et IgM)		135 €	500 €
Sérologie Yersinia enterocolitica O:9 :		324 €	

## I.5 Moyens en personnel : (évaluation sur 4 mois)

Catégories de personnel	<b><u>ETP</u></b>	<b><u>Coût salarial total par catégorie*</u></b>
Aide technique		
Technicien de laboratoire	0.2	2632 €
Biologiste	0.1	2100 €
Autres (préciser)		
Secrétaire	0.1	1069 €
	TOTAL	5 801 €

\* salaires plus charges

## II) Autres activités

## II. 1 Données d'activité

Nombre de souches dans le souchothèque	15
Nombre de laboratoires participants au réseau	Tous les laboratoires potentiellement
Nombre de courriers échangés avec les membres du réseau	20
Nombre d'épidémies investiguées	
Nombre de participation à des réunions organisées dans le cadre de ces investigations	1
Nombre de jours de formation organisés	0
Nombre de personnes formées	0
Nombre de stagiaires encadrés par le CNR	0
Nombre d'appels pour conseil	20
Nombre de publications et/ou communications relatives aux activités des CNR	0

## II.2 Surveillance et expertise

Evaluer les coûts de personnel et les frais de fonctionnement (hors structure) afférents aux activités listées dans le tableau ci-dessous en année pleine.

<b>Activité</b>	Fonctionnement	<b>Personnel</b>		
		qualification	ETP	Salaire + charges
<b>CONSTITUTION ET ENTRETIEN D'UNE SOUCHOTHEQUE</b>				
<b>Animation de réseau</b> (hors formation)				
<b>Investigation d'épidémies</b>				
<b>Activité de conseil</b>				

## II.3 Etudes et recherche

Evaluer les coûts de personnel et les frais de fonctionnement (hors structure) afférents aux activités listées dans le tableau ci-dessous en année pleine

<u>Activité</u>	Fonctionnement	<u>Personnel</u>		
		qualification	ETP	Salaire + charges
Mise au point de test de diagnostic Préciser : PCR en temps réel		biologiste	0.1	2100 €
Mise au point de méthode analytique Préciser :				
Participation à des études Préciser :				
<b>Autre activité (préciser)</b>				

## II.4 Valorisation des travaux

Evaluer les coûts de personnel et les frais de fonctionnement (hors structure) afférents aux activités listées dans le tableau ci-dessous en année pleine

<u>Activité</u>	Fonctionnement	<u>Personnel</u>		
		qualification	ETP	Salaire + charges
<b>Formation</b> Préciser :				
<b>Publications – communications</b> Préciser				
<b>Autres (préciser)</b>				

II.5 Tableau récapitulatif du personnel participant à l'activité CNR hors activité analytique en année pleine (évaluation extrapolée à partir de 4 mois de fonctionnement)

Catégories de personnel	<b>ETP</b>	<b>Coût salarial total par catégorie*</b>
Secrétariat	0.1	3 207 € / an
Aide technique		
Technicien de laboratoire	0.2	7 896 € / an
Biologiste	0.1	6 300 € / an
Autres (préciser)		
	<b>TOTAL</b>	<b>17 403 € / an</b>

**UTILISATION DES CREDITS ACCORDES PAR LE MINISTERE  
LABORATOIRE ASSOCIE AU CNR DES BRUCELLA  
ANNEE 2002**

Objet de la subvention accordée : *Laboratoire associé au CNR des Brucella*

**MONTANT DE LA SUBVENTION ACCORDEE (SI PLUSIEURS SUBVENTIONS ONT ETE ACCORDEE POUR DES ACTIONS DIFFERENTES, REMPLIR UNE ANNEXE PAR SUBVENTION) : 62 676 EUROS**

Utilisation de la subvention accordée :

COMPTES DE CHARGES	Montant	Observations
DEFICITS ANTERIEURS	néant	
ACHATS (1)		
Achats stockés		
Achats d'études et prestations de service		
Achats de matériel	8 500 €	Cytospin
Achats non stockés	14 251 €	Détail joint
Autres		
SERVICES EXTÉRIEURS		
Locations		
Entretien et réparations		
Prime d'assurance		
Divers		
AUTRES SERVICES EXTERIEURS		
Personnels extérieurs à l'entreprise		
Publicité/publications		
Transports		
Déplacements, missions et réceptions		
Frais postaux/téléphone		
services bancaires et assimilés		
divers		
IMPOTS ET TAXES		
Taxes sur salaires		
Autres impôts et taxes		
CHARGES DE PERSONNEL		
Rémunération du personnel		
Charges sécurité sociale, prévoyance		
Autres charges sociales et de personnel		
AUTRES CHARGES GESTION COURANTE		
CHARGES FINANCIERES		
CHARGES EXCEPTIONNELLES		
DOTATION AMORTISSEMENTS		
<b>TOTAL</b>	<b>22 751 €</b>	

(1) joindre le détail des achats ou les facteurs correspondantes

Nom, signature du Directeur de l'établissement ou de la personne habilitée à cet effet et date accompagné de la mention "certifié exact":

## Budget prévisionnel - Année 2003

COMPTES DE CHARGES	Montant	COMPTES DE PRODUITS	Montant
DEFICITS ANTERIEURS	néant	EXCEDENTS ANTERIEURS	39 925 €
ACHATS		REMUNERATION DES SERVICES	
Achats d'études et prestations de service Achats non stockés de matière et de fournitures Fournitures non stockables (eau, énergie) Fournitures d'entretien et de petit équipement Fournitures administratives Achats de matériel -ordinateur avec software - microscope inversé -appareil d'amplification génique en temps réel -appareil western-blot	15 000 €     2 750 € 4 000 € 48 013 € 1 500 €	Prestations d'analyses de biologie médicale Produits des activités annexes Autres produits (préciser)	
SERVICES EXTÉRIEURS		SUBVENTIONS	
Sous-traitance Locations Entretien et réparations Prime d'assurance Documentation Divers		<u>Etat</u> : Direction Générale de la Santé (préciser le bureau concerné) Bureau des Maladies Infectieuses et de la Politique Vaccinale	31 338 €
AUTRES SERVICES EXTERIEURS		Autres directions du ministère (préciser)	
Rémunérations intermédiaires et honoraires Publicité/publications Déplacements, missions et réceptions Frais postaux/téléphone Services bancaires et assimilés divers		Autres ministères (préciser)	
IMPOTS ET TAXES		<u>Collectivités territoriales</u> : Région(s) Département(s) Commune(s)	
Impôts et taxes sur salaires Autres impôts et taxes		Organismes publics (préciser)	
CHARGES DE PERSONNEL		Fonds européens	
Rémunération du personnel Charges sécurité sociale, prévoyance Autres charges de personnel		DONT sommes restant à recevoir: (préciser) (DGS, Bureau Bureau des Maladies Infectieuses et de la Politique Vaccinale)	43 873 €
AUTRES CHARGES GESTION COURANTE		AUTRES PRODUITS (préciser)	
CHARGES FINANCIERES		PRODUITS FINANCIERS	
CHARGES EXCEPTIONNELLES		PRODUITS EXCEPTIONNELS	
DOTATION AMORTISSEMENTS		REPRISE AMORTISSEMENTS	
<b>TOTAL</b>	<b>71 263 €</b>	<b>TOTAL</b>	<b>71 263 €</b>
EXCEDENTS OU DEFICITS: .....0 €..... F compléter et rayer la ou les mentions inutiles			

Nom, signature du Directeur de l'établissement ou de la personne habilitée à cet effet et date accompagné de la mention "certifié exact":

**Laboratoire associé au  
Centre National de Référence des *BRUCELLA***

**Dépenses fonctionnement : REACTIFS**

Fournisseur	Désignation	N° de commande	N° de facture	Date de la facture	Montant TTC en €
ELVETEC	7 Finnpiettes Research 2 Portoirs pour Finnpiettes 6 portoirs pour microtubes 2 chronomètres	EH/57845	6020076011	11/12/2002	1590
ELVETEC	5 Finnpiettes Research	EH/57845	6020077548	18/12/2002	993
SARSTEDT	Portoir pour cryotubes	EH/59033	02009119	30/12/2002	71
QIAGEN	3 Mini Kit QIAamp DNA	EH/63793	940036055	16/01/2003	1765
ROCHE	3 Kits LC FAST START DNA MASTER + Capillaires light cyclor	EH/63796	1720109494	16/01/2003	1003
ROCHE	1 adaptateur de centrifugeur light cyclor	EH/64054	1720115226	27/01/2003	370
PROLIGO	Sondes et amorces	EH/66603	FA 03 001537	06/02/2003	1325
ROCHE	3 Kits LC FAST START DNA MASTER	EH/70280	1720121368	07/02/2003	591
PROLIGO	Sondes et amorces	EH/66603	FA 03 002831	17/02/2003	3116
DADE BEHRING	Absorbant RF pour dosage Anticorps IgM	EH/76081	9202265884	05/03/2003	17
DAKO	5 x15ml milieu de montage pour IF	EH/76085	03032393	05/03/2003	167
ROCHE	4 Kits LC FAST START DNA MASTER	EH/71680	1720134449	06/03/2003	788
J2L ELITECH	12 x 5ml Wright 3 x 80 tests rose bengale	EH/76077	FA246087	06/03/2003	478
QIAGEN	Proteinase K	EH/76082	940038158	06/03/2003	195
BECTON DICKINSON	17 Brucella Abortus antigen	EH/76083	003351350	06/03/2003	1061
BIOMERIEUX	Fuoline-M	EH/76363	0830359	06/03/2003	54
BIOMERIEUX	Fuoline-G 7 x 30 tests Brucelloslide	EH/76075	0830358	06/03/2003	122
BIORAD	2 x3 ml Rose bengale 11 x 10 ml SUSP. BRUCELLA Wright	EH/76080	259664	10/03/2003	109
J2L ELITECH	Serum positif Brucella	EH/76077	FA246866	21/03/2003	12
PROLIGO	Sondes et amorces	EH/66603	FA 03 004956	24/03/2003	425
<b>TOTAL</b>					<b>14 252 €</b>