

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER  
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

ANNEE : 2015

THESE 2015 / TOU3 / 2019

**THESE**

**POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
obtenu après soutenance du

**Mémoire du DIPLOME d'ETUDES SPECIALISEES de BIOLOGIE MEDICALE**

Aude FABRE  
Née le 12 Mai 1986

**Le genre *Bordetella* : Portrait de famille**  
**De la phylogénie à la pathogénie**

12 Mars 2015

Directeurs de thèse : Docteur Nicole GUIISO et Docteur Alain LE COUSTUMIER

**JURY**

Président :	Professeur Nicole MARTY
1 <sup>er</sup> assesseur :	Professeur Patrice MASSIP
2 <sup>ème</sup> assesseur :	Docteur Christine SEGONDS
3 <sup>ème</sup> assesseur :	Docteur Julien GORET

# REMERCIEMENTS

---

A la Présidente de ce Jury,

**Madame le Professeur Nicole MARTY**

Je vous remercie d'avoir accepté de présider ce Jury. Une belle façon pour moi de clôturer ces cinq années d'Internat, après un premier semestre effectué au sein du Laboratoire de Bactériologie du CHU de Toulouse.

A ma directrice de thèse,

**Madame le Docteur Nicole GUISO**

Je suis très reconnaissante et honorée que vous ayez accepté de codiriger cette thèse. Un immense merci pour vos conseils avisés et l'accueil chaleureux que vous m'avez réservé lors de mes séjours à l'Institut Pasteur.

Une pensée pour l'ensemble de votre équipe qui s'est rendue disponible pour répondre à mes (innombrables) questions.

A mon directeur de thèse,

**Monsieur le Docteur Alain LE COUSTUMIER**

Pour ce que j'ai appris grâce à cette thèse, et qui ne s'applique pas qu'au monde bactérien: nos ancêtres méritent plus d'attention que celle que nous leur portons; s'intéresser à eux nous aide à mieux connaître leurs descendants.

Pour ce que j'ai appris, grâce à vous, bien avant cette thèse. Il y a une qualité qui doit survivre à l'effet du temps: la curiosité.

Un infini merci.

A l'ensemble des membres de mon jury,

**Monsieur le Professeur Patrice MASSIP**

Parce que mieux que nous tous, vous savez que les petites bêtes peuvent parfois manger les grosses, et qu'on ne doit pas les ignorer. Je vous remercie d'avoir accepté de siéger dans ce jury de thèse.

**Madame le Docteur Christine SEGONDS**

Je garde un excellent souvenir de votre enseignement et de mon passage au Laboratoire de Bactériologie dans le Secteur rose. Je suis très honorée que vous ayez accepté de juger ce travail.

**Monsieur le Docteur Julien GORET**

Ta présence dans ce jury était une évidence pour moi, en raison notamment de ton engagement formidable auprès des internes du Laboratoire de Bactériologie du CHU de Bordeaux. Je te remercie d'avoir accepté cette invitation et suis fier d'avoir un représentant bordelais dans mon jury.

Je tiens également à remercier ceux et celles qui ont contribué à ma formation. Un grand Merci entre autres à Sophie Voisin, Xavier Iriart, François Labonne, Marie Delpech, et Nathalie Wilhelm.

Enfin, une pensée aux technicien(ne)s toulousains, bordelais, cadurciens et saint-gaudinois avec qui j'ai apprécié travailler.

**A mamie Odette,**

D'une mamie "tarte aux pommes" devenue un petit oiseau fragile, je suis sûre que depuis ton petit coin de paradis, tu continues à veiller sur nous.

**A mes grand parents,**

Pour les agréables moments passés aux "Bourdettes" dans mon enfance et pour les veillées plus contemporaines à discuter avec vous autour de la table de la cuisine. Qu'ils soient encore nombreux!

**A mes parents,**

Pour avoir veillé sur moi de la sortie de ma coquille à mon premier envol.

Maman, je pense être arrivée à l'aboutissement de la voie "quatre" (IV), même si je ne maîtrise pas encore très bien la "taxonomie". Papa, merci pour toutes tes petites attentions au quotidien. Votre soutien et votre affection me sont chers.

Après quelques années de migration, et un vol prochain vers le soleil levant, je serai heureuse à mon tour de vous accueillir là où je vais bientôt établir mon nid.

**A mon oncle Francis, à Yvette, à ma tatie Claudie,**

Pour tous les bons moments passés ensemble et ceux à venir.

**A mon frère Thibaut, à Cyrielle,**

Pour tous les joyeux instants de notre enfance. Je ne te remercierai jamais assez d'avoir été présent (sans quoi j'aurais été condamnée à jouer à la poupée...). Je suis heureuse aujourd'hui que tu t'épanouisses auprès de Cyrielle. Je vous souhaite beaucoup de bonheur à tous les deux.

**A ma cousine Anne-Laure, à JC,**

Parce que je n'ai qu'une cousine, et qu'elle est unique! A JC: tu es finalement un peu comme mon "beau-frère".

**A la famille Gabriel,**

Parce qu'il n'y a pas besoin de traverser la planète pour partager des moments de bonheur, il suffit juste de traverser la rue. Merci de vous être occupés du bébé Punk.

**A mon Bichon,**

"Parce que c'est toi, rien que pour ça ♥". Tout est vrai, même si je ne chante pas aussi bien que Axel Red.

**A Martine, Marc, Papi Denis et Papi Jean,**

Merci de m'avoir accueillie avec tant de gentillesse dans votre famille.

**A Ma Rinette,**

Pour tous les instants PP-Goupil. Je suis heureuse que nos chemins se soient croisés un jour sur des pas de danse.

**A mes amis de Collège,**

A Audrey, Delphine et Nadège. Parce que vous avez beaucoup compté dans cette tranche de vie ingrate où on se construit.

A Benjam, "présent", car tu es un vieux de la vieille.

**Aux Gazières et Gazières,**

Parce que vous êtes incroyables,

Parce qu'il n'y en a pas un pour rattraper l'autre (et surtout pas Marr),

Parce que chacun d'entre vous est la pièce unique d'un puzzle qui s'assemble à merveille.

A Benjam, toujours "présent"!

**Aux Moussettes,**

Parce qu'un pacte d'amour-amitié ne se rompt jamais!

**Aux Mouss,**

De toutes les œuvres d'art, "Chez Raymond" restera le plus beau chef d'œuvre.

**Aux copains de la fac,**

Pour tous les moments partagés à la fac, les descentes de burette en TP et après les cours, et les soirées "Hip-Hop et cassoulet" où nous avons swingué ensemble.

Ces belles années resteront gravées dans ma mémoire.

**A mes co-internes toulousains,**

Trois années bourrrréééées de souvenirs, ce fut un plaisir de MIFer avec vous!

**saint-gaudinois, cadurciens,**

Merci pour cette agréable année, partagée entre parties de belote, pisse mémé et course à pied!

Une pensée pour Angèle et Claire avec qui j'ai apprécié travailler dans ces deux contrées.

**et bordelais,**

Merci de m'avoir adoptée pour terminer en beauté ma vie d'interne (et ce, malgré mon accent toulousain prononcé...).

**A mes colocs,**

A une merveilleuse année passée à Saouzelong avec Sophie, Mikel et Josie,

Puis une étape toulousaine avec Francis Zegut et Stéphanie,

Pour terminer par un semestre bordelais avec Bonzaius I<sup>er</sup> et Cornix (King in the North!!).

Vous avez été de supers colocataires.

**A mes amis capoeiristes toulousains et bordelais, à meu mestre Afonso Vida Nova,**

Grâce à vous tous, "Ela é linda é ela é linda capoeira".

# SOMMAIRE

---

Liste des abréviations .....	3
I. Introduction .....	5
II. Historique .....	7
III. Caractères généraux .....	12
1) Taxonomie.....	12
2) Niches écologiques.....	12
3) Approche microbiologique.....	14
a. Caractères microscopiques, culturels et biochimiques.....	14
b. Sensibilité aux antibiotiques .....	18
IV. Phylogénie.....	22
1) Relations phylogénétiques des <i>Bordetella</i> avec les organismes environnementaux des genres <i>Achromobacter</i> et <i>Alcaligenes</i> .....	22
2) Phylogénie au sein du genre <i>Bordetella</i> .....	25
a. Le complexe BBS .....	25
i. Analyse Multi Locus Enzyme Electrophoresis ou MLEE .....	25
ii. Analyse Multi Locus Sequence Typing ou MLST .....	29
b. Relations phylogénétiques entre le complexe BBS et les autres espèces (hormi <i>B. petrii</i> ) du genre <i>Bordetella</i> .....	33
c. <i>Bordetella petrii</i> , l'ancêtre commun?.....	35
V. Pathologie comparée .....	36
1) <i>Bordetella petrii</i> , l'ancêtre commun .....	36
2) <i>Bordetella ansorpii</i> et <i>Bordetella trematum</i> , les anecdotiques? .....	37
3) <i>Bordetella avium</i> , un pathogène strictement aviaire? .....	38
a. Atteintes respiratoires chez les volailles.....	38
b. Atteintes respiratoires chez l'Homme .....	38
4) <i>Bordetella hinzii</i> , passerelle entre <i>Bordetella avium</i> et <i>Bordetella bronchiseptica</i> .....	39
a. Atteintes respiratoires chez les volailles.....	39
b. Atteintes respiratoires chez les mammifères .....	39
c. Bactériémies chez l'Homme .....	40
d. Atteintes respiratoires chez l'Homme .....	40
e. Atteintes digestives chez l'Homme.....	41

5)	<i>Bordetella bronchiseptica</i> , la polyvalente.....	43
a.	Atteintes oto-rhino-laryngées et pulmonaires chez les suidés.....	43
b.	Trachéobronchite canine.....	44
c.	Atteintes respiratoires chez l'Homme.....	45
6)	<i>Bordetella holmesii</i> , l'énigmatique.....	47
a.	Bactériémies chez l'Homme.....	47
b.	Pseudo-coqueluche et pneumopathies à <i>B. holmesii</i> chez l'Homme.....	47
c.	Autres tableaux cliniques invasifs chez l'Homme.....	50
7)	<i>Bordetella pertussis</i> et <i>Bordetella parapertussis</i> , agents de la coqueluche.....	51
VI.	Evolution au sein du genre <i>Bordetella</i> et adaptation à l'hôte.....	54
1)	Modification de la taille du génome.....	54
2)	Acquisition et expression différentielle des facteurs de virulence.....	56
a.	Adhésines.....	56
i.	Protéines fimbriales.....	57
ii.	Hémagglutinine filamenteuse.....	59
iii.	Pertactine.....	61
iv.	Autres auto-transporteurs.....	62
b.	Toxines.....	63
i.	Toxine pertussique.....	63
ii.	Adényl Cyclase-Hémolysine.....	64
iii.	Toxine dermonécrotique.....	66
iv.	Cytotoxine trachéale.....	67
v.	Système de sécrétion de type III et protéine effectrice Bte A.....	68
vi.	Lipopolysaccharide.....	69
c.	Autres composantes bactériennes pouvant jouer un rôle dans la virulence.....	71
3)	Le système de régulation BvgAS: système clé dans l'évolution du genre <i>Bordetella</i> .....	72
4)	Impact de la vaccination coquelucheuse.....	77
a.	Facteur de micro-évolution chez <i>B. pertussis</i> ?.....	77
b.	Le vaccin coquelucheux, responsable de l'émergence des autres espèces?.....	78
5)	Acquisition de pathogénicité et adaptation à l'hôte: autres exemples dans d'autres genres bactériens.....	79
VII.	Discussion: <i>Bordetella</i> , un genre dont les secrets de famille restent à découvrir.....	81
VIII.	Conclusion.....	89
IX.	Références bibliographiques.....	90

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

aa	<b>acides aminés</b>
AAB	Complexe <i>Alcaligenes</i> , <i>Achromobacter</i> et <i>Bordetella</i>
Ac	<b>Anticorps</b>
ADN	<b>Acide DesoxyriboNucléique</b>
Ag	<b>Antigène</b>
AC-Hly	<b>Adényl Cyclase-Hémolysine</b>
AMPc	<b>Adénosine MonoPhosphate cyclique</b>
ANSORP	<b>Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens</b>
ATP	<b>Adénosine TriPhosphate</b>
BBS complex	<i>B. bronchiseptica</i> subsp. <i>pertussis</i> , <i>parapertussis</i> et <i>bronchiseptica</i> complex
BCP	<b>Bromocrésol pourpre</b>
BGS	Milieu de <b>Bordet</b> et <b>Gengou</b> au sang
BPP <sub>hu</sub>	<i>B. parapertussis</i> (isolats <b>humains</b> )
BPP <sub>ov</sub>	<i>B. parapertussis</i> (isolats <b>ovins</b> )
BrkA	<i>Bordetella</i> <b>resistance to killing A</b>
Bvg	<i>Bordetella</i> <b>virulence gene</b>
CDC	<b>Centers for Disease Control and prevention</b>
CDS	<b>Coding DNA Sequence</b>
CGH	<b>Comparative Genomic Hybridization</b>
CHO	<b>Chinese Hamster Ovary</b>
CMI	<b>Concentration Minimale Inhibitrice</b>
CNR	<b>Centre National de Référence</b>
Col BVH	<b>Collège de Bactériologie, Virologie et d'Hygiène des Hôpitaux de France</b>
CR3	<b>Complement Receptor type 3</b>
CRD	<b>Carbohydrates Recognition Domain</b>
CTT	<b>Cytotoxine Trachéale</b>
FHA	<b>Filamentous Hemagglutinin</b> (ou <b>Hémagglutinine filamenteuse</b> )
FIM	<b>Fimbriae</b> (ou protéines <b>fimbriales</b> )
GTPase	<b>Guanosine TriPhosphatase</b>
HPt	<b>Histidine Phosphotranferase</b>
ICAM-1	<b>Intercellular Adhesion Molecule-1</b>

IL	<b>I</b> nterleukine
IS	<b>I</b> nsertion <b>S</b> equence (ou séquence d'insertion)
IV	<b>I</b> ntraveineux
kDa	<b>kiloD</b> alton
LRI/IAP	<b>L</b> eucocyte <b>R</b> esponse <b>I</b> ntegrin/ <b>I</b> ntegrin-associated <b>P</b> rotein
MLEE	<b>M</b> ulti <b>L</b> ocus <b>E</b> nzyme <b>E</b> lectrophoresis
MLST	<b>M</b> ulti <b>L</b> ocus <b>S</b> equence <b>T</b> yping
NAD	<b>N</b> -acetylglucosamine
NF-κB	<b>N</b> uclear <b>F</b> actor - <b>κ</b> <b>B</b>
OMS	<b>O</b> rganisation <b>M</b> ondiale de la <b>S</b> anté
PAS	<b>P</b> er (Period circadian protein) - <b>A</b> rnt (Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator protein) - <b>S</b> im (Single-minded protein)
pb	<b>p</b> aire de <b>b</b> ases
PCR	<b>P</b> olymerase <b>C</b> hain <b>R</b> eaction
PNN	<b>P</b> olynucléaires <b>N</b> eutrophiles
PRN	<b>P</b> ertactine
RTX	<b>R</b> epeats-in- <b>t</b> oxin
SCID	<b>S</b> evere <b>C</b> ombined <b>I</b> mmuno <b>D</b> efeciency
SphB1	<b>S</b> erine <b>p</b> rotease <b>h</b> omolog of <i><b>B</b>ordetella 1</i>
SPIs	<i><b>S</b>almonella</i> <b>p</b> athogenicity <b>i</b> slands
SSTT	<b>S</b> ystème de <b>S</b> écrétion de <b>T</b> ype <b>III</b>
ST	<b>S</b> equence <b>T</b> ype
TcfA	<b>T</b> racheal <b>c</b> olonization <b>f</b> actor <b>A</b>
TDN	<b>T</b> oxine <b>D</b> ermonécrotique
TNF	<b>T</b> umor <b>N</b> ecrosis <b>F</b> actor
TP	<b>T</b> oxine <b>P</b> ertussique
TPS	<b>T</b> wo-partner <b>P</b> rotein <b>S</b> ecretion
UPGMA	<b>U</b> nweighted <b>P</b> air <b>G</b> roup <b>M</b> ethod with <b>A</b> rithmetic <b>M</b> ean
Vaccin Ce	<b>V</b> accin <b>C</b> oquelucheux à germes entiers
Vaccin Ca	<b>V</b> accin <b>C</b> oquelucheux <b>a</b> cellulaire
vag	<b>v</b> irulence <b>a</b> ctivated <b>g</b> ene
vrg	<b>v</b> irulence <b>r</b> epressed <b>g</b> ene
Vag8	<b>V</b> ir-activated <b>g</b> ene protein 8
VLA-5	<b>V</b> ery late <b>a</b> ntigen-5

## I. Introduction

*Bordetella pertussis*, l'agent étiologique de la coqueluche, a été découverte par Bordet et Gengou en 1900, il y a plus d'un siècle. Dans la première moitié du XX<sup>e</sup> siècle, deux autres espèces bactériennes appartenant au même genre ont été décrites. *Bordetella parapertussis*, deuxième agent de la coqueluche, capable d'infecter l'Homme et les ovins, et *Bordetella bronchiseptica*, responsable d'infections chez les mammifères et parfois chez l'Homme, constituent avec *B. pertussis* les espèces de *Bordetella* dites "classiques".

Depuis, de nouvelles espèces sont venues se greffer au genre *Bordetella*, qui en comprend à ce jour neuf. Deux espèces pathogènes aviaires ont été découvertes: *Bordetella avium*, fréquemment rattachée aux *Bordetella* "classiques" et *Bordetella hinzii*, également isolée chez des sujets immunodéprimés. *Bordetella holmesii*, initialement décrite dans des cas de bactériémies, n'est retrouvée que chez l'Homme. Plus récemment, *Bordetella trematum* et *Bordetella ansorpii* ont été mises en évidence lors de cas d'infections sporadiques chez l'Homme. Enfin, *Bordetella petrii*, découverte en 2001, est la seule espèce environnementale du genre, également responsable d'infections chez les personnes immunodéprimées.

Différentes observations positionnent *B. petrii*, l'unique *Bordetella* environnementale, comme l'espèce la plus proche de l'ancêtre commun des *Bordetella* sp., alors que *B. pertussis*, agent de la coqueluche et pathogène strictement humain, aurait émergé bien plus récemment.

Partant de ce constat, il paraît légitime de s'interroger sur les facteurs d'évolution (phylogénie) qui ont permis l'adaptation à l'hôte et l'acquisition d'un pouvoir pathogène (pathogénie) restreint à l'Homme chez *B. pertussis*. A travers cette problématique, ce travail a pour vocation de comprendre les relations entre les espèces du genre *Bordetella* et l'espèce environnementale *B. petrii*, en prenant en considération l'implication en pathologie des nouvelles espèces décrites.

Après une revue des caractéristiques générales des neuf espèces, l'approche phylogénétique sera développée afin de comprendre la relation des *Bordetella* sp. avec les espèces environnementales des genres *Achromobacter* et *Alcaligenes*, mais aussi les relations phylogénétiques au sein même du genre. Les spécificités de chacune des neuf espèces en

termes de pouvoir pathogène et de spectre d'hôtes seront abordées grâce à la pathologie comparée. Enfin, l'étude des principaux facteurs d'évolution vers une adaptation à l'hôte et l'acquisition d'un pouvoir pathogène nous permettra d'établir un lien entre la phylogénie et la pathogénie des *Bordetella* sp.

## II. Historique

L'époque d'apparition des bactéries appartenant au genre *Bordetella* reste obscure. Contrairement à d'autres pathologies telles que la diphtérie ou le tétanos décrites par Hippocrate, l'histoire de la coqueluche serait plus récente. Les premières descriptions concernent l'agent responsable de la coqueluche, *Bordetella pertussis*, dont la symptomatologie est caractéristique. Elles émaneraient de l'Ecosse, dans la période du Moyen Âge, où Moulton décrit une maladie appelée "the kink", évoquant une affection provoquant des "crises de quintes". A cette même époque, le "child-cough" ou "toux d'enfant" est décrit en Angleterre (Hansen and Freney, 2002).

Guillaume de Baillou, médecin français (1538-1616), est le premier à établir une description précise de la coqueluche lors d'une épidémie parisienne en 1578, où les malades présentaient des symptômes caractéristiques: accès de toux récidivant toutes les cinq heures, accompagnés de saignements nasaux et de vomissements. Le caractère épidémique de la maladie est constaté par Thomas Willis, anatomiste anglais (1621-1675), qui donnera le nom de *tussis puerorum convulsiva*.



Guillaume de Baillou (1538-1616)



Thomas Willis (1621-1675)

En 1792, Nils Rosen de Rosenstein émet l'hypothèse de l'origine africaine ou indienne de la coqueluche, qui serait arrivée en France en 1414 (Hegerle and Guiso, 2013).

Jules Jean-Baptiste Vincent Bordet (1870-1961) et son beau-frère Octave Gengou (1875-1957), deux médecins immunologistes et microbiologistes belges, mettent en évidence le bacille responsable de la coqueluche en 1900 lors de l'examen microscopique des expectorations d'une fille de cinq mois, prélevée dans la phase précoce de la maladie. Ils ne réussirent toutefois pas à isoler la bactérie en culture, en raison de sa fragilité et de la nécessité de mise au point d'un milieu de culture spécifique. A cette époque, une confusion existe avec le bacille de Pfeiffer, *Haemophilus influenzae*, décrit par certains microbiologistes comme l'agent responsable de la coqueluche. Ce doute sera levé lorsque les deux bruxellois parvinrent à isoler sur un milieu à base d'amidon de pommes de terre et de sang défibriné de cheval (milieu de Bordet et Gengou) le véritable agent de la coqueluche en 1906, qu'ils nommeront *Bacillus pertussis*, et qui deviendra plus tard *Haemophilus pertussis*. Depuis 1952, la bactérie responsable de la coqueluche est dénommée *Bordetella pertussis*, en l'honneur de Jules Bordet.



Jules Bordet (1870-1961)



Octave Gengou (1875-1957)

*Bordetella parapertussis*, isolée plus rarement que *B. pertussis*, est responsable d'une forme atténuée de coqueluche et qui dure généralement moins longtemps. Grace Eldering et Pearl Kendrick distinguent *B. parapertussis* de *B. pertussis* en 1938 en raison de ses caractères culturels différents (croissance plus rapide, oxydase négative et production de pigment sur gélose tyrosine) (Woolfrey and Moody, 1991).



Pearl Kendrick (1890-1980)



Grace Eldering (1900-1988)

L'espèce *Bordetella bronchiseptica* a été initialement décrite en pathologie vétérinaire (Mathewson and Simpson, 1982), et est responsable majoritairement d'infections respiratoires chez les animaux.

Elle a été isolée pour la première fois par Ferry en 1910 chez des chiens atteints de symptômes identiques à ceux de la maladie de Carré (Ferry, 1910; Woolfrey and Moody, 1991). Ferry décrit un petit bacille mobile aérobic strict, gram négatif, ne fermentant pas les glucides, après isolement à plusieurs reprises au niveau des bronches et de la trachée des chiens malades. Il nomme cette nouvelle espèce *Bacillus bronchicanis*. Elle sera renommée *Bacillus bronchisepticus* suite à son isolement chez d'autres espèces que le chien lors de travaux réalisés ultérieurement par Ferry, Mac Gowan et Smith (Goodnow, 1980).

L'hypothèse d'un lien entre *Bacillus bronchisepticus* et *Bacillus pertussis* est évoquée en 1915 par Rhea. Son pouvoir pathogène chez l'Homme est évoqué après isolement de la bactérie chez deux garçons animaliers atteints d'une infection respiratoire. En 1926, *Bacillus bronchisepticus* est isolé dans les expectorations d'une fillette atteinte d'un syndrome coquelucheux atténué. Le rattachement de l'espèce au genre *Bordetella* n'a lieu qu'en 1952 suite aux travaux de Moreno-Lopez. *Bacillus bronchisepticus* est alors renommé *Bordetella bronchiseptica*. Toutefois, cette espèce reste difficilement distinguable d'espèces des genres *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, et *Brucella* dont les caractères phénotypiques sont proches (Goodnow, 1980).

Depuis sa découverte en 1910, *B. bronchiseptica* a été isolée chez différents animaux: chien, chat, lapin, furet, lapin, cobaye, souris, porc, rat, renard, hérisson, cheval, volaille (Goodnow, 1980) et même chez des phoques (Kuiken et al., 2006).

Enfin, le genre *Bordetella* s'est enrichi au cours des dernières décennies de nouvelles espèces.

Officiellement identifiée en 1995, l'espèce *Bordetella holmesii* est décrite pour la première fois en 1983 par le CDC (Centers for Disease Control and prevention) chez un homme asplénique de 37 ans originaire de New York (Weyant et al., 1995). Weyant et coll. identifient au cours de leurs travaux sur quinze isolats issus d'hémocultures une nouvelle espèce appartenant au genre *Bordetella*, jusqu'alors classée parmi les bactéries gram négative à croissance lente du groupe CDC NO-2 (pour CDC non-oxidizer group 2). Son nom a été donné en hommage à Barry Holmes, microbiologiste anglais, pour sa contribution à la caractérisation de bactéries gram négative rares et atypiques.

*Bordetella avium* a été décrite pour la première fois par Blackall et ses collaborateurs au Canada en 1967 (Filion et al., 1967). Cette nouvelle espèce, apparentée à *B. bronchiseptica* en 1978 par Hinz et coll. (Hinz et al., 1978), et identifiée comme *Alcaligenes faecalis* par Simmons et coll. en 1980 (Simmons et al., 1980) est mise en avant pour son implication dans le coryza des volailles. En 1984, l'étude de 28 isolats aviaires répertoriés jusque-là en tant que *Bordetella*-like ou *Bordetella bronchiseptica*-like, a permis de mettre en évidence cette nouvelle espèce dont le nom est évocateur de son principal réservoir, aviaire.

*Bordetella hinzii* a été décrite pour la première fois par Cockson et coll. en 1994 (Cookson et al., 1994) lors d'une bactériémie sur cathéter chez un patient immunodéprimé. Un an plus tard, Vandamme et coll. démontrent que des isolats humains et vétérinaires appartenant jusque-là au même taxon que *Bordetella avium* correspondent en fait à une nouvelle espèce, *B. hinzii*. Le premier cas daterait donc de 1957, l'isolat provenant d'une expectoration d'un patient d'âge et de sexe non précisés (Vandamme et al., 1995). Depuis, plusieurs cas ont été décrits chez l'Homme dans la littérature dans des prélèvements d'origines diverses (sanguine, respiratoire, digestive...). Le nom de l'espèce a été choisi pour honorer le microbiologiste allemand K. H. Hinz qui a participé activement à la connaissance des isolats de *Bordetella* sp. d'origine aviaire.

L'espèce *Bordetella trematum* a été isolée en 1995 par Dorittke et coll. en tant que *Bordetella avium*-like (Dorittke et al., 1995). Vandamme et coll. ont clarifié sa position taxonomique en 1996 à partir de dix isolats cliniques issus d'exsudats d'oreille et de blessures cutanées de localisations diverses. Le nom de l'espèce, d'origine grecque, signifie "une chose ouverte, percée, une ouverture, ou une porte" se référant à la présence de cette bactérie dans les plaies et autres parties exposées du corps humain (Vandamme et al., 1996).

*Bordetella ansorpii* et *Bordetella petrii* ont été découvertes dans les années 2000. L'espèce environnementale *Bordetella petrii* a été décrite par von Wintzingerode et coll. en 2001 (von Wintzingerode et al., 2001). Elle a été isolée initialement à partir d'un système de déchloration anaérobie enrichi en sédiments de rivière. Elle est associée à de rares cas cliniques chez l'Homme (Fry et al., 2005) (Stark et al., 2007) (Le Coustumier et al., 2011). Le nom de l'espèce a été attribué en hommage à J. R. Petri, microbiologiste allemand, élève de R. Koch, qui a contribué au développement des boîtes éponymes.

La première description de *Bordetella ansorpii* date de 2005 avec seulement 2 cas rapportés. Le nom de l'espèce a été attribuée en référence à ANSORP pour "Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens" par Ko et ses collaborateurs (Ko et al., 2005).

### III. Caractères généraux

#### 1) Taxonomie

Dans les années 1930, Ernst Mayr définissait l'espèce biologique chez les eucaryotes comme "une communauté d'êtres vivants reconnaissables par leurs caractères, occupant une niche particulière et capables de se reproduire sexuellement entre eux en donnant naissance à une progéniture fertile (pour conserver une masse commune unique de gènes)".

Contrairement aux eucaryotes, le concept universel d'espèce chez les procaryotes est bien plus complexe. Initialement basée sur les caractères phénotypiques, la taxonomie bactérienne a connu d'importantes évolutions avec la découverte de l'ADN et de l'information génétique. Ainsi, l'avènement de la biologie moléculaire a conduit à repenser la taxonomie bactérienne d'un point de vue à la fois phénotypique et génotypique.

Les bactéries du genre *Bordetella* appartiennent à la classe des Proteobacteria, à la sous classe des Bêtaproteobacteria et à l'ordre des Burkholderiales. Le genre *Bordetella* est classé au même titre que les genres *Alcaligenes* et *Achromobacter* au sein de la famille des Alcaligenaceae (Garrity et al., 2005).

Il existe actuellement huit espèces au sein du genre *Bordetella*: *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Bordetella avium*, *Bordetella hinzii*, *Bordetella trematum*, *Bordetella holmesii* et *Bordetella petrii*. L'espèce *Bordetella ansorpii*, qui est la dernière à avoir été décrite, est toujours en attente de description formelle (Standards Unit, 2014).

#### 2) Niches écologiques

*B. pertussis* est une espèce strictement humaine parmi les *Bordetella*. Sa transmission est exclusivement inter-humaine. A ce jour, il n'existe pas de preuves scientifiques tangibles pour un réservoir environnemental ou animal de cet agent pathogène.

*B. parapertussis* est rencontrée chez l'Homme, mais aussi chez les ovins (Chen et al., 1989).

*B. bronchiseptica* a été isolée chez différents mammifères (chien, chat, lapin, furet, lapin, cobaye, souris, porc, rat, renard, hérisson, cheval...), qui constituent le principal réservoir (Goodnow, 1980). Son isolement chez l'Homme est possible. Cette espèce est également capable de persister pendant une période prolongée dans une solution saline tamponnée ou de l'eau de lac sans addition de nutriments (Porter et al., 1991), ce qui montre sa capacité à survivre dans l'environnement.

*B. holmesii* a été isolée chez l'Homme à plusieurs reprises. Il n'existe pas d'arguments probants à ce jour en faveur d'une transmission inter-humaine (Pittet et al., 2014). Son réservoir reste à établir.

*B. avium* et *B. hinzii* ont pour réservoir les homéothermes du type volailles. Des cas sporadiques chez l'Homme ont été décrits pour ces deux espèces. Comme *B. bronchiseptica*, la capacité de *B. avium* à survivre dans l'eau ou des solutions salines tamponnées a pu être démontrée (Sebahia et al., 2006).

Isolées dans de rares cas chez l'Homme, le réservoir de *B. trematum* et de *B. ansorpii* est à ce jour inconnu.

Enfin, *B. petrii* est la seule espèce de *Bordetella* actuellement connue qui soit environnementale. Cette espèce a une importante aptitude d'adaptation à de nombreuses niches écologiques et a pu être isolée aussi bien au niveau de racines de plantes que d'éponges marines (Gross et al., 2010). Elle a fait l'objet de quelques cas d'isolement chez l'Homme (von Wintzingerode et al., 2001) et n'a à ce jour jamais été isolée chez l'animal.

### 3) Approche microbiologique

#### a. Caractères microscopiques, culturels et biochimiques

Les bactéries du genre *Bordetella* sont des coccobacilles gram négatif de  $0,2-0,5 \times 0,5-2,0 \mu\text{m}$ . Au microscope, elles sont généralement disposées individuellement ou par paires, et rarement sous forme de chaînes. Elles peuvent prendre une coloration bipolaire.

La température optimale de croissance en culture est de 35-37 °C. A l'exception de *B. petrii*, toutes les espèces sont aérobies strictes. Elles possèdent un métabolisme de type oxydatif et non fermentatif: leur énergie est obtenue par oxydation des acides aminés, et non par fermentation des sucres. Toutes les espèces sont catalase +, à l'exception de *B. holmesii* et *B. hinzii* dont la catalase est variable. Elle n'a pas été déterminée pour *B. ansorpii*. Les espèces *B. bronchiseptica* (en phase IV), *B. avium*, *B. hinzii*, *B. trematum* et *B. ansorpii* sont mobiles.

*B. pertussis* est une bactérie fragile et exigeante dont la culture n'est possible que sur des milieux spécifiques. En effet, la bactérie est extrêmement sensible aux traces de détergent ou aux acides gras insaturés souvent présents au niveau de la verrerie de laboratoire. Par conséquent, les milieux de culture solides doivent être supplémentés en charbon ou en amidon qui sont capables de fixer ces acides gras. Les milieux solides utilisés pour cultiver *B. pertussis* sont le milieu de Bordet et Gengou additionné de 15% de sang frais (< 24h) défibriné de mouton (BGS) ou le milieu au charbon additionné de 10% de sang frais (< 24h) défibriné de mouton. L'accumulation d'acides gras dans le sang vieilli entraîne une perte de sensibilité du diagnostic de *B. pertussis* par culture. L'ajout de cefalexine permet d'inhiber de nombreuses bactéries gram positives et certaines bactéries gram négatives présentes dans la flore oropharyngée (cependant, certains isolats de *B. pertussis* peuvent être inhibés par la présence de cefalexine). *B. pertussis* ne pousse pas sur gélose nutritive ou sur milieu MacConkey en culture primaire mais ces milieux peuvent être utilisés pour les subcultures. Elle peut être également cultivée en milieu liquide synthétique Stainer-Scholte contenant des acides aminés (acide glutamique ou proline), dont un sert de source de soufre (cystine), des facteurs de croissance (nicotinamide, glutathion) et une cyclodextrine capable de fixer les acides gras (Guiso, 2015).

Les colonies apparaissent généralement après 3-4 jours, mais parfois plus tardivement en culture primaire (5-7 jours). Les cultures doivent être gardées au moins 7 jours avant d'être rendues négatives. En culture primaire, les colonies obtenues sont petites, nacrées, luisantes et bombées, présentant un aspect en "gouttelettes de mercure". Une zone d'hémolyse est observée autour des colonies. Cet aspect se modifie au cours des subcultures et devient de plus en plus rugueux, avec perte du caractère hémolytique en raison du phénomène de variation de phase (cf VI- 3)). *B. pertussis* donne des réactions positives pour l'oxydase, négative pour l'uréase et la nitrate réductase (Standards Unit, 2014; Guiso, 2015).

Les colonies de *B. parapertussis* sont semblables à celles de *B. pertussis*, mais sont plus larges, plus ternes et sont visibles dès 2-3 jours de culture. Contrairement à *B. pertussis*, *B. parapertussis* pousse sur gélose nutritive et donne une coloration brune par diffusion de pigment au sein du milieu au bout de plusieurs jours. L'oxydase et la nitrate réductase sont négatives. L'uréase est positive. Comme *B. pertussis*, le caractère hémolytique est présent en phase I et disparaît en phase IV (cf VI- 3)).

*B. bronchiseptica* se cultive sans difficulté en 1-2 jours sur la plupart des milieux utilisés usuellement (gélose au sang, gélose chocolat ± bacitracine, Mueller Hinton, BCP, Trypticase soja, MacConkey...). Les colonies font 2 mm environ, sont lisses en phase I, et deviennent rugueuses en phase IV. Comme *B. pertussis*, le caractère hémolytique présent en phase I disparaît en phase IV. La bactérie est immobile sauf en phase IV (cf VI- 3)). L'oxydase, l'uréase (en 4 heures) et la nitrate réductase sont positives (Le Coustumier, 2003; Standards Unit, 2014).

*B. avium* et *B. hinzii*, phénotypiquement très proches, sont des bactéries non exigeantes ayant un délai de pousse rapide (1 jour) sur milieux usuels. Les colonies, de 1-2 mm, ne sont pas hémolytiques sur gélose au sang. Elles sont capables de pousser à des températures de 25°C et 42°C. Les colonies revêtent généralement une couleur grise à gris foncé, et sont rondes, lisses, convexes, brillantes. *B. hinzii* peut présenter un aspect muqueux (Fabre et al., 2015). Ces deux bactéries sont positives pour l'oxydase. Elles présentent des caractères similaires (Standards Unit, 2014) dont une uréase et une nitrate réductase négatives.

*B. holmesii* pousse en 3 à 7 jours sur les milieux utilisés habituellement. L'ajout de cefalexine n'est pas recommandé pour la culture de *B. holmesii* car elle inhibe sa pousse (Pittet et al., 2014). Rondes et semi-opaques, les colonies produisent un pigment brun diffusant dans la gélose. Contrairement aux deux décrites précédemment, elle ne pousse pas à 25°C et 42°C. Elle est oxydase négative, nitrate réductase négative. L'absence d'oxydase et d'hémolyse la différencie de *B. pertussis*, *B. bronchiseptica*, *B. avium*, *B. hinzii* et *B. petrii*. L'absence d'activité uréasique la différencie de *B. parapertussis* (Pittet et al., 2014; Standards Unit, 2014).

*B. ansorpii* et *B. trematum* peuvent croître sur gélose au sang, gélose chocolat et gélose MacConkey. Pour *B. ansorpii*, les caractères positifs sont entre autres le citrate, la gélatinase, le malate. Elle présente une réaction négative pour l'oxydase, l'uréase, la réduction des nitrates (Ko et al., 2005; Standards Unit, 2014). *B. trematum* est nitrate réductase variable, citrate positif, oxydase et uréase négatives (Vandamme et al., 1996).

*B. petrii* est capable de croître dans des conditions aérobie, microaérophile et anaérobie. La bactérie ne requiert pas des conditions de culture spécifiques mais a un délai de pousse relativement long (3 jours). Les colonies sont petites, lisses, rondes, brillantes et ne sont pas hémolytiques sur gélose au sang. Elle présente une réaction positive pour l'oxydase et des réactions négatives pour l'uréase et la réduction des nitrates (Le Coustumier et al., 2011; Standards Unit, 2014).

Les caractères cultureux et biochimiques principaux pour l'identification des espèces du genre *Bordetella* sont récapitulés dans le Tableau 1.

**Tableau 1.** Caractères culturaux et biochimiques des différentes espèces du genre *Bordetella*.

Test	<i>B. pertussis</i>		<i>B. parapertussis</i>		<i>B. bronchiseptica</i>		<i>B. holmesii</i>	<i>B. avium</i>	<i>B. hinzii</i>	<i>B. trematum</i>	<i>B. ansorpii</i>	<i>B. petrii</i>
	Phase I	Phase IV	Phase I	Phase IV	Phase I	Phase IV						
Hémolyse	+	-	+	-	+	-	-	-	-		-	-
Croissance sur BGS	+ (3-4j)		+ (2-3j)		+ (1-2j)		+ (3j)	+ (1j)	+ (1j)	+ (1-2j)	+	+ (3j)
Croissance Mac Conkey	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+	+/-	+	+/-	+	ND	+
Oxydase	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+
Uréase	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Nitrate réductase	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+/- (faible)	-	-
Utilisation du citrate	-	-	+/-	+/-	+/- (faible)	+/- (faible)	-	+/- (faible)	+	+	+	+
Arginine dihydrolase	+/-	+/-	-	-	+/-	+/-	-	+/-	+	ND	-	ND
Ornithine decarboxylase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ND	ND	ND
Acidification des sucres	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Mobilité	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-
Pigment	absent		brun		absent		brun	absent	absent	absent	ND	absent
G + C %	67,7-68,9		68,1-69		68,2-69,5		61,5-62,3	61,6-62,6	66-67	64-65	63,8	63,8-64,3

ND = Non déterminé

## b. Sensibilité aux antibiotiques

*B. pertussis* et *B. parapertussis*, les agents de la coqueluche, sont habituellement sensibles aux macrolides (érythromycine, azithromycine, clarithromycine), qui constituent le traitement de référence en France.

Une étude réalisée en 1988 par Kurzinski et coll. montrait que *B. pertussis* était *in vitro* sensible à l'amoxicilline, l'érythromycine, la rifampicine et l'association triméthoprim-sulfaméthoxazole. Les CMI de 90% des 75 isolats de *B. pertussis* testés étaient respectivement de 1 µg/mL, ≤ 0,12 µg/mL, 1 µg/mL et 4 µg/mL. Les CMI basses (≤ 0,25 µg/mL) retrouvées pour les fluoroquinolones (norfloxacine, ofloxacine, ciprofloxacine) étaient en accord avec une sensibilité de *B. pertussis* à ces molécules. La tétracycline était inconstamment active. Pour *B. parapertussis*, les CMI pour l'amoxicilline et la rifampicine étaient 16 fois plus élevées, et 2 à 4 fois plus élevées avec les fluoroquinolones (Kurzinski et al., 1988). Une étude anglo-saxonne menée par Fry et coll. en 2010 sur 583 isolats de *B. pertussis* a montré que tous les isolats étaient sensibles aux trois macrolides testés (érythromycine, azithromycine, clarithromycine) par la méthode E-test (Biomérieux®). Les isolats testés présentaient tous des CMI ≤ 0,125 µg/mL (Fry et al., 2010).

Toutefois, des résistances aux macrolides ont été décrites, notamment aux Etats-Unis avec la mise en évidence du premier isolat résistant à l'érythromycine en Arizona (CMI > 64 µg/mL) (CDC, 1995). En France, le premier isolat résistant aux macrolides a été décrit en 2012 chez un nouveau-né (CMI > 256 µg/mL pour érythromycine, clarithromycine et azithromycine) (Guillot et al., 2012). Des isolats résistants aux macrolides ont également été décrits à Taiwan, en Chine et en Iran. Quatre isolats résistants à l'érythromycine, l'azithromycine et la clarithromycine (CMI > 256 µg/mL) ont été mis en évidence lors d'une étude réalisée dans la province de Shaanxi en Chine, peu après la description de deux isolats résistants dans la province de Shandong. Ces isolats présentaient une mutation A2047G au niveau du gène de l'ARNr 23S (Wang et al., 2013), au même titre que les isolats résistants retrouvés en France et aux Etats-Unis.

Le traitement recommandé pour la coqueluche en France est l'azithromycine pendant 3 jours ou la clarithromycine pendant 7 jours. Il doit être administré dans les trois premières

semaines d'évolution. Le cotrimoxazole (sulfaméthoxazole + triméthoprime) peut être utilisé pendant 15 jours en cas de contre-indications aux macrolides. L'antibiothérapie de la coqueluche n'a pas d'impact sur l'expression clinique, sauf si elle est administrée très précocement. Par contre, elle réduit significativement la contagiosité, ce qui rend possible le retour en collectivité après 3-5 jours de traitement (Instruction DGS/RI1/2014/310).

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques pour *B. bronchiseptica* a montré qu'il existait des discordances entre la technique de diffusion en gélose Mueller-Hinton (lecture en 24h) et la détermination des CMI par méthode E-test. Cette dernière doit être privilégiée car l'antibiogramme par diffusion ne permet pas de conclure pour les isolats apparaissant "sensibles" pour certains antibiotiques, notamment pour l'ampicilline, l'association ampicilline-sulbactam, l'amoxicilline, l'association amoxicilline-acide clavulanique, la ticarcilline, la ceftazidime, l'amikacine, l'érythromycine, les quinolones.

*B. bronchiseptica* possède un profil de résistance caractéristique qui constitue une aide à l'identification: elle est sensible à la pipéracilline, aux associations pipéracilline-tazobactam et ticarcilline-acide clavulanique, au latamoxef, à l'imipénème, à la ciprofloxacine, aux aminosides (sauf la streptomycine) et à la colistine. Elle est résistante au cefuroxime, au céfotétan, à la cefoxitine, au cefotaxime, à la ceftriaxone, à l'aztréonam et à la fosfomycine. Le cotrimoxazole est inconstamment actif, particulièrement chez les isolats de patients immunodéprimés en chimioprophylaxie de toxoplasmose et pneumocystose. Les cyclines sont habituellement sensibles mais des résistances acquises ont déjà été observées (Le Coustumier, 2003).

Une étude réalisée sur 10 isolats de *B. avium* montrait que 90% des isolats étaient sensibles à la pénicilline, à l'ampicilline ± sulbactam, à la pipéracilline, à la ticarcilline, à la cefalotine, au cefoperazone, à la ceftriaxone, au cefotaxime et à la ceftazidime. Le cefuroxime et l'érythromycine étaient inactifs. Les aminosides (gentamicine, tobramycine, amikacine) étaient actifs. La tétracycline et le triméthoprime-sulfaméthoxazole étaient inconstamment actifs (Mortensen et al., 1989). L'étude de Blackall et coll. sur 16 isolats australiens est en accord avec les résultats précédents indiquant une sensibilité de tous les isolats à l'ampicilline, une sensibilité inconstante pour la tétracycline, et une résistance à l'érythromycine, la lincomycine, ainsi que le sulfaméthoxazole et le triméthoprime testés isolément (Blackall et al., 1995).

Les rares isolats de *B. hinzii* testés montrent que la bactérie présente des résistances aux bêta-lactamines. La pipéracilline, la ticarcilline, et l'association amoxicilline-acide clavulanique sont inconstamment actives. L'association pipéracilline-tazobactam et les carbapénèmes (en excluant l'ertapénème pour lequel nous disposons de trop peu de données) sont généralement actives. L'ampicilline, l'amoxicilline et les céphalosporines de troisième génération (à l'exception de la ceftazidime) sont généralement inactives *in vitro*. Concernant les aminosides, *B. hinzii* est sensible à la gentamicine et l'amikacine alors qu'elle est généralement résistante à la tobramycine. Les fluoroquinolones (ciprofloxacine, levofloxacine) sont décrites comme inactives dans la plupart des cas rapportés. Le cotrimoxazole semble inconstamment actif (Funke et al., 1996; Kattar et al., 2000; Arvand et al., 2004; Hristov et al., 2008; Palacian Ruiz et al., 2013; Fabre et al., 2015). Enfin, le manque de données concernant les autres molécules ne permet pas de conclure.

Les données issues des différentes études réalisées concernant la sensibilité de *B. holmesii* aux antibiotiques montrent que les bêta-lactamines, y compris les céphalosporines de troisième génération, sont inconstamment actives. Des données divergentes sont retrouvées concernant le cefotaxime. La ceftazidime présente généralement la CMI la plus basse parmi les céphalosporines testées. Les macrolides semblent peu actifs *in vitro*. Le cotrimoxazole est généralement actif. Les CMI basses pour les fluoroquinolones et l'imipénème en font des molécules de choix pour le traitement (Shepard et al., 2004; Pittet et al., 2014)

Pour *B. petrii*, de rares isolats étudiés ont permis d'obtenir des résultats préliminaires. Ces isolats présentent une résistance aux bêta-lactamines (pénicilline, amoxicilline), notamment aux céphalosporines de troisième génération (cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime), mais également à la clindamycine, à la rifampicine, au linézolide, à la daptomycine, à l'acide fusidique et aux fluoroquinolones. L'activité de la pipéracilline n'est pas restaurée par l'ajout de tazobactam pour certains isolats. Tous les isolats sont résistants à l'ertapénème et présentent des CMI variables à l'imipénème et au méropénème. Les aminosides sont inconstamment actifs. Enfin, les CMI basses trouvées pour la minocycline, la tigécycline, le cotrimoxazole et la fosfomycine montrent la sensibilité de *B. petrii* à ces molécules *in vitro* (Fry et al., 2005; Stark et al., 2007; Le Coustumier et al., 2011).

Enfin, le manque de données sur les infections à *B. ansoipii* et *B. trematum* ne permet pas de conclure quant à leur sensibilité aux antibiotiques utilisés en pratique clinique.

Des études sur la sensibilité aux antibiotiques et l'établissement des seuils de concentrations critiques sont absolument nécessaires afin d'orienter le clinicien dans le choix thérapeutique, si il y a lieu. Hormis pour la coqueluche, il n'y a pas de recommandations thérapeutiques pour les infections à *Bordetella* sp. Concernant les espèces aptes à persister dans le tractus respiratoire telles que *B. bronchiseptica*, *B. petrii*, *B. holmesii* et *B. hinzii*, la durée du traitement doit être prolongée afin de guérir le patient et si possible d'éradiquer la bactérie (Fabre et al., 2015).

## IV. Phylogénie

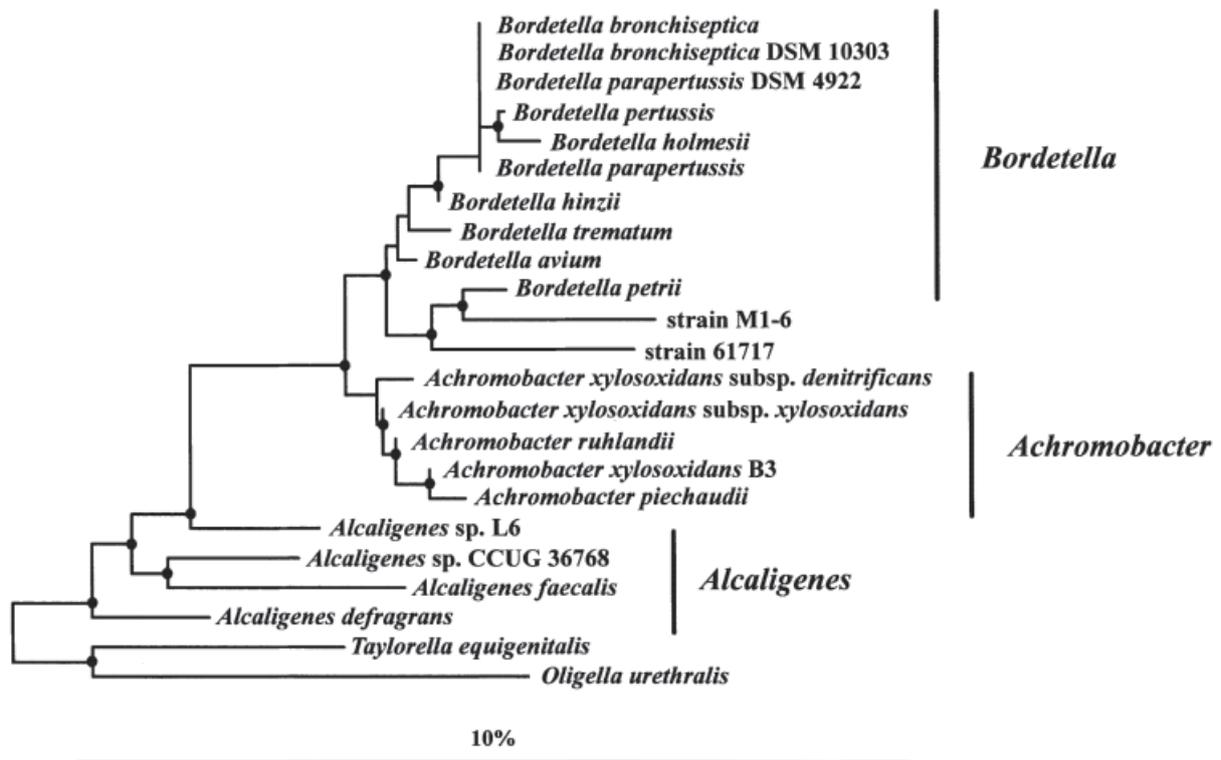
### 1) Relations phylogénétiques des *Bordetella* avec les organismes environnementaux des genres *Achromobacter* et *Alcaligenes*

La famille des Alcaligenaceae (ordre des Burkholderiales) inclut les genres *Alcaligenes*, *Achromobacter* et *Bordetella*, qui comprennent des espèces proches au niveau phylogénétique.

L'avènement des analyses de la séquence ADNr 16S par PCR a engendré plusieurs modifications dans la taxonomie et le positionnement phylogénétique des genres *Bordetella* et *Alcaligenes*, et l'apport d'un nouveau genre *Achromobacter*.

Alors que les espèces du genre *Bordetella* sont principalement associées à l'Homme et aux animaux homéothermes, les genres *Achromobacter* et *Alcaligenes*, exception faite de quelques agents pouvant être retrouvés en pathogénie chez l'Homme, sont constitués d'espèces principalement environnementales (von Wintzingerode et al., 2002).

L'analyse concomitante de la séquence ADNr 16S et du contenu en bases G+C a permis d'identifier le genre *Achromobacter*, qui comprend de nombreuses espèces autrefois rattachées au genre *Alcaligenes*, et qui s'avère phylogénétiquement plus proche des *Bordetella* que des *Alcaligenes*. L'arbre phylogénétique basée sur l'analyse de la séquence ADNr 16S montre que les espèces des genres *Achromobacter* et *Bordetella* forment deux groupes étroitement reliés, et qui sont clairement séparés du genre *Alcaligenes*, plus hétérogène (Figure 1) (Yabuuchi et al., 1998). L'ensemble des trois genres *Alcaligenes*, *Achromobacter* et *Bordetella* forment le complexe AAB au sein de la sous classe bêta des protéobactéries.



**Figure 1.** Arbre phylogénétique basé sur 1418 positions de l'ADNr 16S des membres du complexe AAB au sein de la sous classe bêta des protéobactéries (von Wintzingerode et al., 2002).

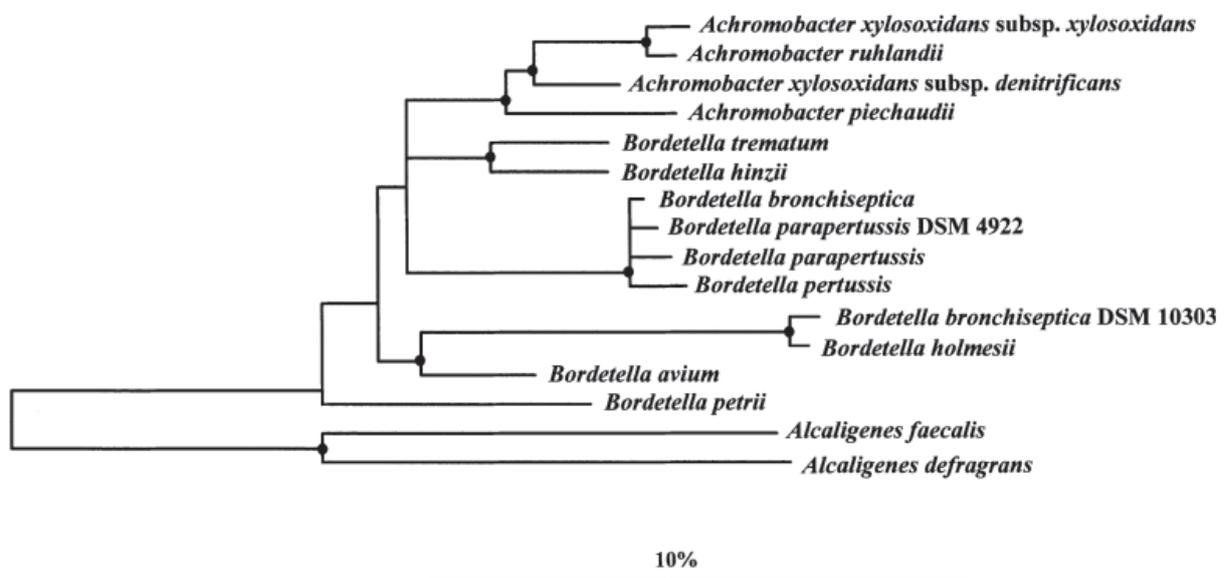
Les gènes codant la sous unité  $\beta$  de l'ARN polymérase (*rpoB*) et la gyrase (*gyrB*) sont ubiquitaires parmi les bactéries et représentent des marqueurs cibles pour l'analyse phylogénétique. Afin de mieux comprendre la relation génétique des espèces du genre *Bordetella* par rapport aux espèces des genres *Achromobacter* et *Alcaligenes*, Von Wintzingerole et ses collaborateurs ont analysé la séquence des gènes *rpoB* et *gyrB*.

L'analyse comparative des séquences d'acides aminés déduites à partir de la séquence du gène *rpoB* corrobore les données de l'arbre phylogénétique basé sur l'ADNr 16S. Deux informations essentielles peuvent être soulignées:

- Les espèces du genre *Bordetella* sont plus étroitement reliées aux espèces du genre *Achromobacter* qu'à celles du genre *Alcaligenes*;
- Les espèces *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. bronchiseptica* sont très proches, en raison de leur séquence d'acides aminés identique ou quasi identique.

De plus, l'arbre phylogénétique dérivé de l'**analyse des séquences d'acides aminés déduites à partir de la séquence du gène *gyrB*** est compatible avec les données de l'arbre phylogénétique basé sur l'ADNr 16S (Figure 2) concernant ces trois points:

- Les espèces du genre *Achromobacter* forment un groupe monophylétique;
- Les espèces du genre *Bordetella* sont plus étroitement reliées aux espèces du genre *Achromobacter* qu'à celles du genre *Alcaligenes*;
- Les séquences d'acides aminés déduites de la séquence du gène *gyrB* des espèces *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. bronchiseptica* diffèrent seulement de quelques acides aminés, montrant l'étroite relation entre ces 3 espèces.



**Figure 2.** Arbre phylogénétique basé sur l'analyse d'une séquence de 379 acides aminés déduite à partir de la séquence du gène *gyrB* au sein du complexe AAB (von Wintzingerode et al., 2002).

Cependant, quelques différences peuvent être notées par rapport à l'analyse basée sur l'ADNr 16S:

- Dans cette analyse, le genre *Bordetella* n'apparaît pas monophylétique;
- En étudiant la similarité dans la séquence *gyrB*, seules *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. bronchiseptica* sont classées comme *Bordetella* "vraies", les séquences *gyrB* des autres espèces étant plus semblables à celle de *Achromobacter xylooxidans* subsp. *xylooxidans*, l'espèce type du genre *Achromobacter*;
- L'analyse de la séquence *gyrB* n'est pas en adéquation avec l'analyse basée sur l'ADNr 16S montrant la relation étroite de *B. holmesii* au complexe formé par *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. bronchiseptica*.

L'observation de différences entre les arbres phylogénétiques considérant des marqueurs différents est assez courante. Dans les analyses phylogénétiques précédentes, ces différences ont été observées alors que l'analyse des positions hypervariables des séquences ADNr 16S et *gyrB* ont été omises lors de l'alignement des séquences. Toutefois, les gènes ADNr 16S et *gyrB* ont pu être soumis à différentes contraintes d'évolution au sein même du complexe AAB, ce qui expliquerait les divergences retrouvées lors de l'interprétation des différents arbres phylogénétiques.

Les relations phylogénétiques au sein du complexe AAB semblent être assez complexes. Alors que l'analyse phylogénétique basée sur *rpoB* corrobore l'analyse basée sur l'ADNr 16S et le contenu en bases G+C définissant les genres *Achromobacter* et *Bordetella* comme deux genres distincts, l'analyse basée sur *gyrB* n'aboutit pas à cette conclusion. De plus, le genre *Alcaligenes* n'est pas bien défini, deux espèces seulement (*A. faecalis* et *A. defragans*) étant validées comme appartenant à ce genre (von Wintzingerode et al., 2002).

## **2) Phylogénie au sein du genre *Bordetella***

### **a. Le complexe BBS**

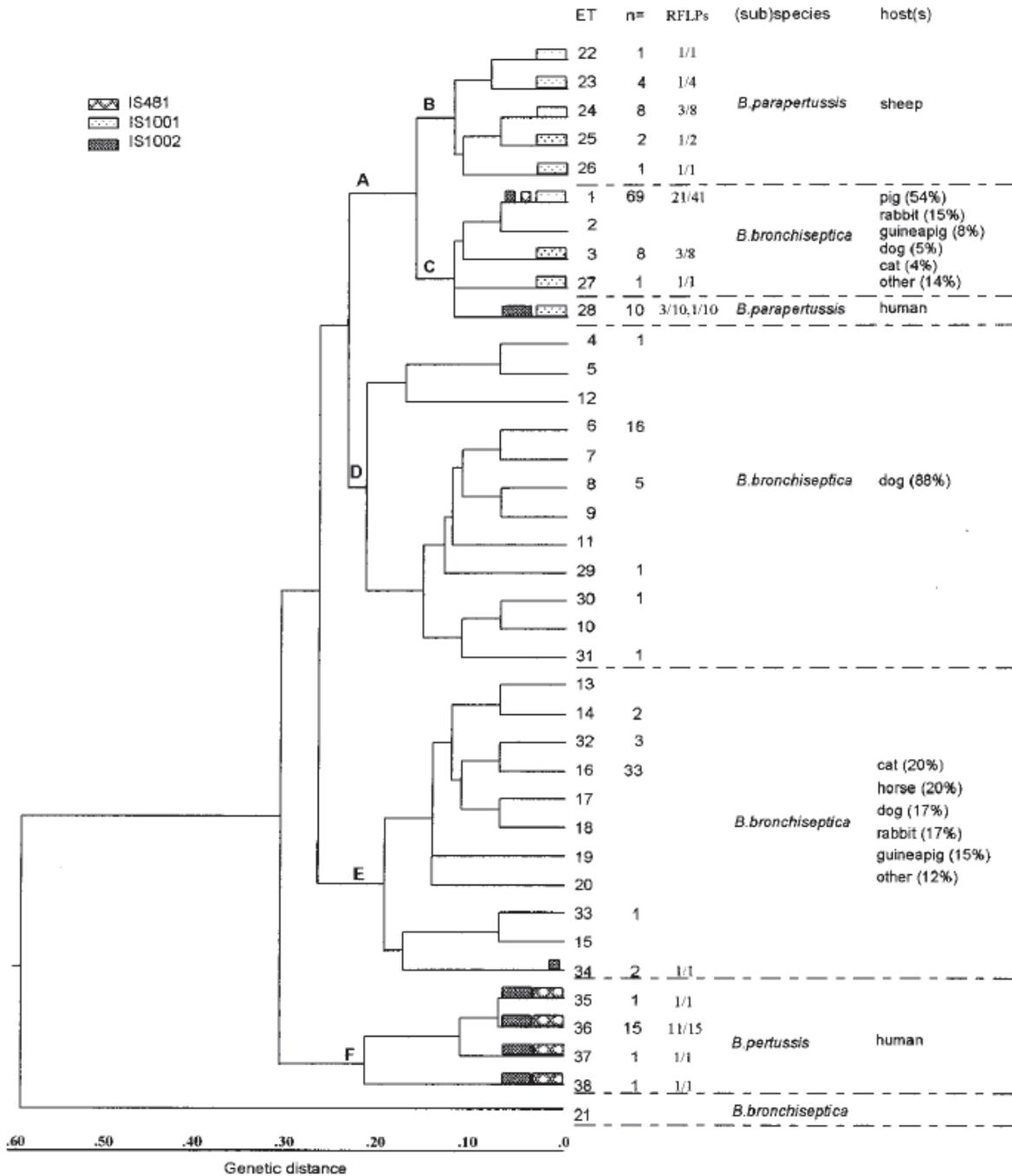
#### **i. Analyse Multi Locus Enzyme Electrophoresis ou MLEE**

En 1986, Musser et ses collaborateurs démontrent la relation étroite entre les 3 espèces *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. bronchiseptica*. Différentes études basées sur l'hybridation ADN-ADN, l'électrophorèse enzymatique multi-locus (MLEE), et l'étude des séquences d'insertion ont conduit à la redéfinition de *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. bronchiseptica*, comme 3 sous espèces du même complexe *B. bronchiseptica*, également appelé "complexe BBS" (Musser et al., 1986; Arico et al., 1987; van der Zee et al., 1997).

L'étude de 188 isolats par MLEE (basée sur l'analyse de 15 enzymes), couplée à l'étude de la distribution et de la variation en terme de position et en nombre de copies de 3 séquences d'insertion IS481, IS1001 et IS1002 a permis de mettre en évidence l'aspect clonal de *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. bronchiseptica* confirmant leur appartenance au même

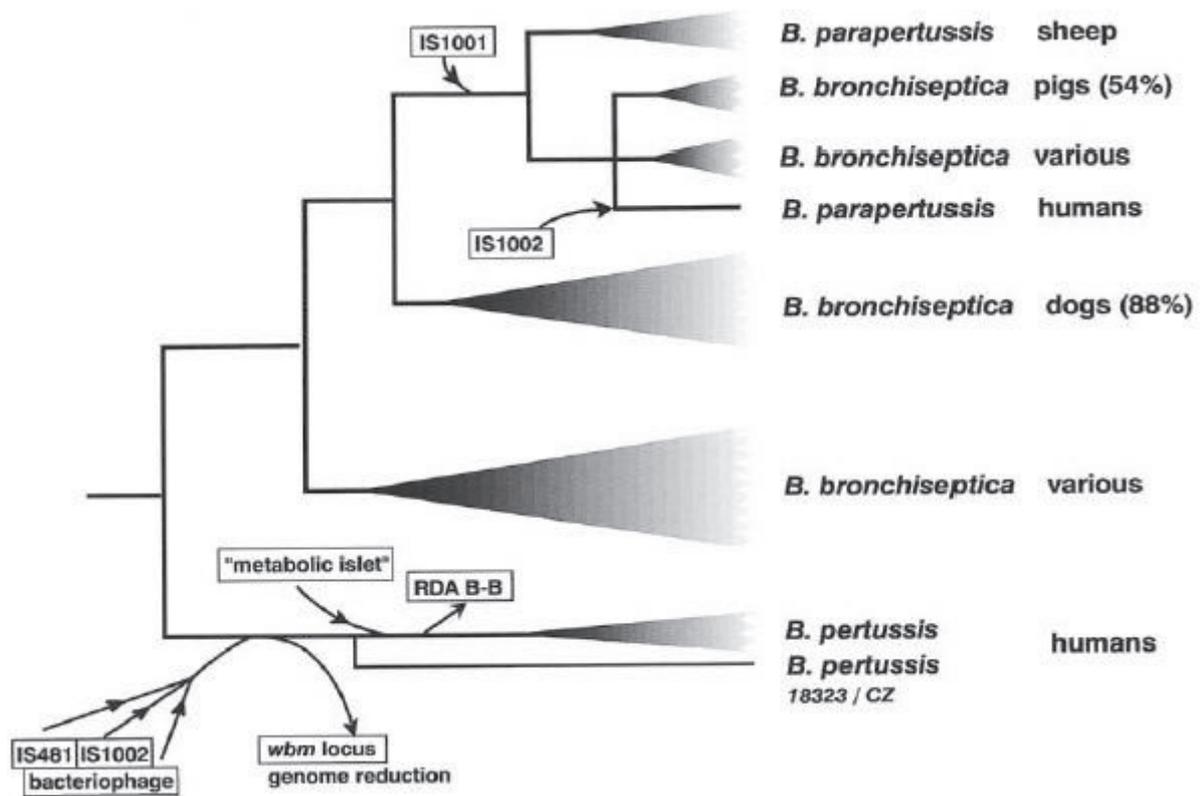
complexe BBS. La faible variabilité génétique de ces trois sous espèces est en accord avec une apparition relativement récente (van der Zee et al., 1997).

Van der Zee et *coll.* ont montré que *B. pertussis* et *B. parapertussis* ont évolué de façon indépendante et à différents moments dans le temps à partir de différentes lignées de *B. bronchiseptica*. En effet, l'émergence de *B. parapertussis* à partir d'une lignée de *B. bronchiseptica* est plus récente que celle de *B. pertussis*. Par ailleurs, *B. parapertussis* d'origine humain (BPP<sub>hu</sub>) et *B. parapertussis* d'origine ovine (BPP<sub>ov</sub>) forment deux clusters distincts, BPP<sub>hu</sub> étant plus proche de BBS que BPP<sub>ov</sub>. Un plus grand degré de divergence est noté dans la population de BPP<sub>ov</sub> par rapport à celle de BPP<sub>hu</sub>. La plus grande homogénéité génétique de BPP<sub>hu</sub> par rapport à celle de BPP<sub>ov</sub> est en faveur d'une émergence plus récente à partir d'une lignée de *B. bronchiseptica*. Les BPP<sub>hu</sub> sont proches de *B. bronchiseptica* contenant l'IS1001 (Figure 3) (van der Zee et al., 1997).



**Figure 3.** Phylogénie basée sur l'analyse MLEE de 15 enzymes et la répartition des IS481, IS1001 et IS1002 de 188 isolats de *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. bronchiseptica* (van der Zee et al., 1997).

Une représentation schématique des relations phylogénétiques au sein du complexe BBS a été proposée par Gerlach et coll. (Figure 4), sur la base des données de l'étude de van der Zee et coll (Gerlach et al., 2001).



**Figure 4.** Représentation schématique des relations phylogénétiques au sein du complexe BBS par analyse MLEE (van der Zee et al., 1997; Gerlach et al., 2001).

Ce schéma montre clairement que l'arbre phylogénétique des différents sous espèces du complexe BBS par MLEE est corrélé avec la distribution des séquences d'insertion dans les différentes lignées phylogénétiques. Les séquences d'insertion IS481 et IS1002 sont retrouvées chez tous les isolats de *B. pertussis*. IS1001 est présente chez tous les isolats de *B. parapertussis* (BPP<sub>hu</sub> et BPP<sub>ov</sub>) et chez quelques isolats de *B. bronchiseptica*, correspondant probablement à son acquisition chez un ancêtre commun. IS1002 est retrouvée chez *B. parapertussis*, mais concerne exclusivement les isolats humains et non ovins, ce qui conforte le fait que les isolats ovins sont distincts des isolats humains. De plus, la présence d'IS1002 chez *B. pertussis* est en faveur d'une acquisition horizontale chez *B. parapertussis*, qui a pu avoir lieu au cours d'une co-infection (van der Zee et al., 1997; Gerlach et al., 2001).

La phylogénie basée sur l'analyse MLEE est généralement fiable en l'absence de recombinaison fréquente, ce qui est *a priori* le cas chez les *Bordetella* (van der Zee et al., 1997). Toutefois, le séquençage des génomes a montré que des événements de recombinaison pouvaient survenir chez *B. pertussis* et doivent être pris en compte pour l'interprétation de ces données (Preston et al., 2004).

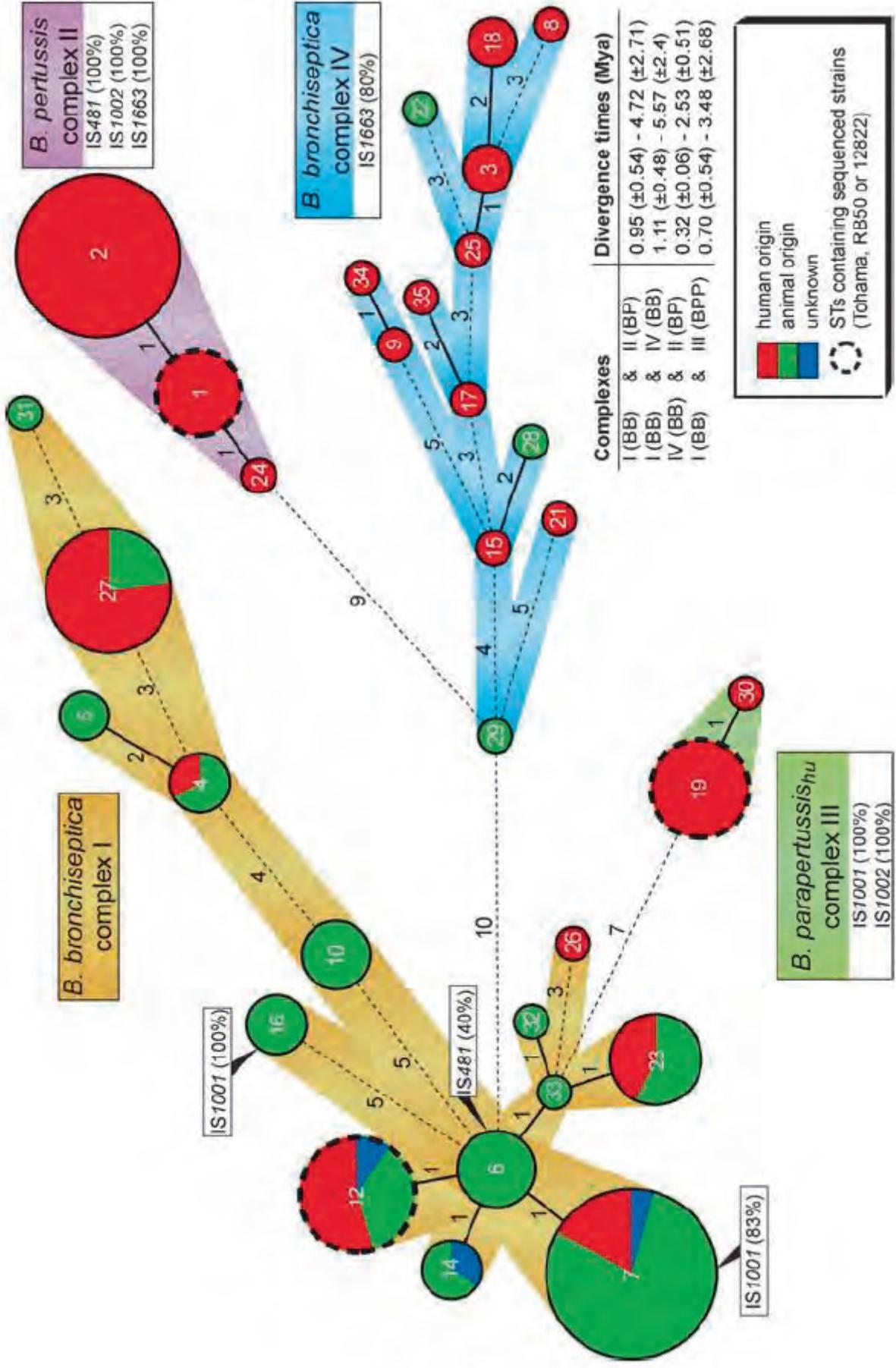
## ii. Analyse Multi Locus Sequence Typing ou MLST

Une collection de 132 isolats a pu être analysée par Diavatopoulos et *coll.* grâce à une combinaison de plusieurs techniques (Diavatopoulos et al., 2005):

- La technique MLST (Multi Locus Sequence Typing) permettant l'étude du polymorphisme de plusieurs gènes domestiques et de gènes de virulence;
- La technique CGH (Comparative Genomic Hybridization) correspondant à l'hybridation génomique comparative utilisant les puces à ADN;
- Et la distribution des séquences d'insertion IS481, IS1001, IS1002, IS1663.

L'étude phylogénétique fondée sur l'analyse de sept gènes domestiques par l'approche MLST a mis en évidence 32 STs (Sequence Types) parmi les 132 isolats. Cette approche a permis de distinguer quatre complexes: les complexes I et IV correspondant à deux sous-populations différentes de *B. bronchiseptica*, le complexe II correspondant aux isolats de *B. pertussis* et enfin le complexe III correspondant aux isolats de *B. parapertussis* d'origine humaine (BPP<sub>hu</sub>) (Figure 5).

La diversité génétique des complexes I et IV est plus importante que celles des complexes II et III, et traduit une apparition plus récente de *B. pertussis* et BPP<sub>hu</sub> au cours de l'évolution, conformément aux données précédentes (Musser et al., 1986; van der Zee et al., 1997). Le complexe I contient la majorité des isolats de *B. bronchiseptica*, dont la souche de référence RB50, mais également les isolats de BPP<sub>ov</sub> (regroupés dans l'unique ST16). Le pourcentage plus élevé d'isolats d'origine humaine au sein du complexe IV, en comparaison au complexe I (80% *versus* 32%) suggère une adaptation préférentielle de ces isolats à l'hôte humain. Cette observation conforte les résultats de l'analyse phylogénétique basée sur la méthode CGH montrant qu'il existe une lignée distincte de *B. bronchiseptica* plus proche de *B. pertussis* (Cummins et al., 2004).

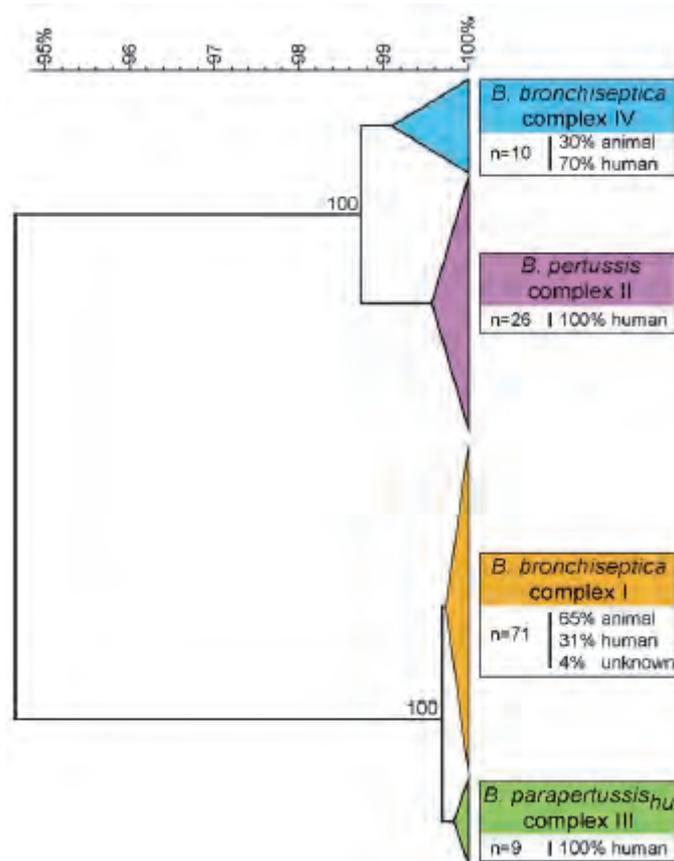


**Figure 5.** Arbre phylogénétique basée sur l'étude MLST de sept gènes domestiques et la répartition des IS481, IS1001, IS1002 et IS1663 (Diatopoulou et al., 2005).

Une étude réalisée au CNR de la coqueluche et des autres bordetelloses à l'Institut Pasteur a permis de confirmer ces résultats, montrant qu'il y avait plus d'isolats humains dans le complexe IV que dans le complexe I (données non publiées). Le nombre d'isolats humains très élevé dans l'étude de Diavatopoulos a pu cependant entraîner une surestimation du pourcentage d'isolats humains dans le complexe IV.

La **répartition des séquences d'insertion** est également en accord avec les données de l'analyse phylogénétique reposant sur l'ADNr 16S et l'étude MLEE de van der Zee et *coll* (van der Zee et al., 1997). L'IS481 n'est retrouvée que chez *B. pertussis* (hormis deux isolats équins de *B. bronchiseptica*). L'IS1001 est retrouvée chez tous les isolats humains et ovins de *B. parapertussis*, et la plupart des isolats du ST7 de *B. bronchiseptica*. L'IS1663 est rencontrée chez tous les isolats de *B. pertussis* et certains isolats de *B. bronchiseptica* du complexe IV. La répartition des IS1001 et IS1663 laisse supposer qu'au sein de *B. bronchiseptica*, une lignée qui a acquis l'IS1001 l'a par la suite transmise à un ancêtre commun à BPP<sub>hu</sub> et BBP<sub>ov</sub>, et une autre lignée ayant acquis l'IS1663 l'a par la suite transmise à *B. pertussis*. L'IS1002 est présente chez les isolats de *B. pertussis* et BPP<sub>hu</sub>, confirmant l'hypothèse d'une acquisition horizontale par BPP<sub>hu</sub> lors de co-infection avec *B. pertussis* (Cummings et al., 2004; Diavatopoulos et al., 2005).

Les relations parmi les *Bordetella* du complexe BBS issues de l'analyse des gènes de ménage sont confirmées par l'**analyse du gène de la pertactine** (*prn*), qui code un facteur d'adhésion retrouvé dans l'ensemble des sous espèces du complexe BBS (Figure 6). L'arbre UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) construit après alignement des séquences *prn* des différents isolats est similaire à celui issu de l'analyse MLST. Les isolats de *B. bronchiseptica* sont dissociés en 2 lignées correspondant aux complexes I et IV, le complexe IV étant plus proche phylogénétiquement des isolats de *B. pertussis* (complexe II). Les isolats humains de *B. parapertussis* (complexe III) représente une branche séparée au sein d'un large cluster contenant les isolats de *B. bronchiseptica* du complexe I. Les isolats ovins de *B. parapertussis* sont inclus dans le complexe I (Diavatopoulos et al., 2005).



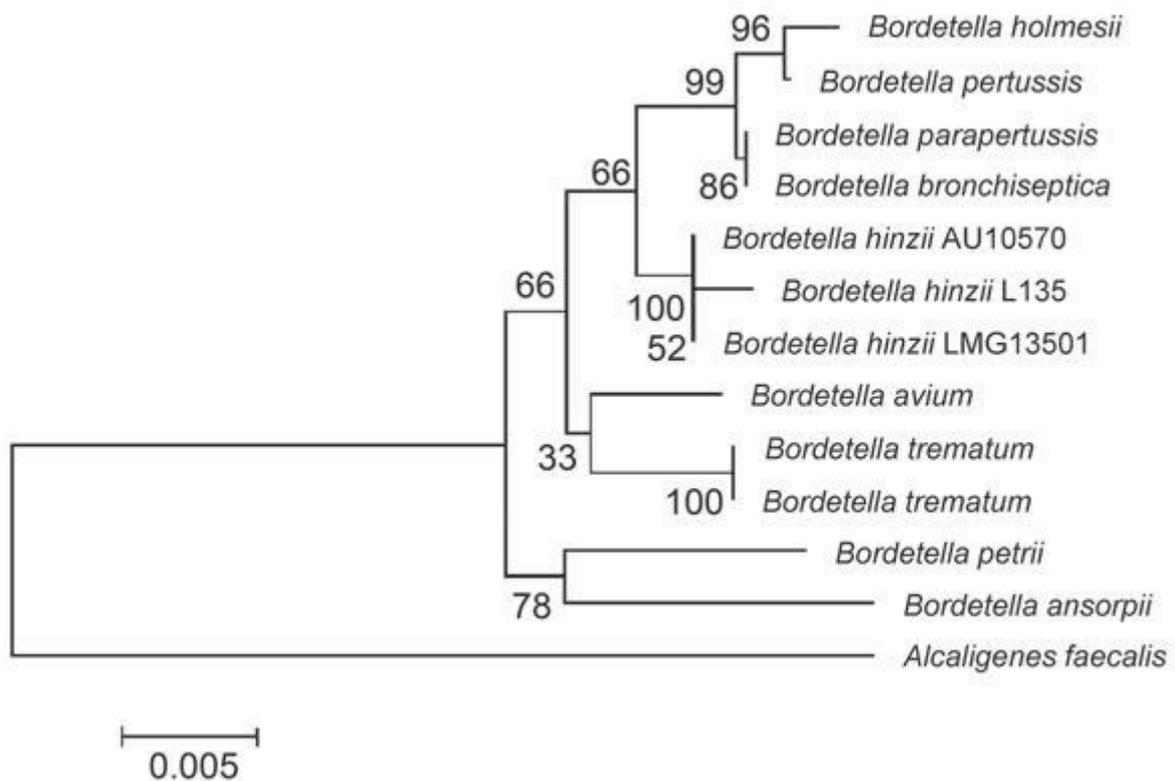
**Figure 6.** Arbre UPGMA basé sur l'analyse de la séquence *prn* codant la pertactine (Diavatopoulos et al., 2005).

De plus, l'**analyse du temps de divergence des complexes** révèle la dissociation de *B. pertussis* et de *B. bronchiseptica* (complexe IV) il y a 0,3 à 2,5 millions d'années, soit plus récente que la dissociation de *B. pertussis* et *B. bronchiseptica* (complexe I) évaluée entre 1,1 à 5,6 millions d'années. BPP<sub>hu</sub> et *B. bronchiseptica* (complexe I) auraient divergé il y a 0,7 à 3,5 millions d'années.

Pour conclure, l'analyse MLST met en évidence que *B. pertussis* et *B. parapertussis* ont évolué de manière indépendante à partir de *B. bronchiseptica*. BPP<sub>hu</sub> et BPP<sub>ov</sub> possèdent un ancêtre de *B. bronchiseptica* commun, mais constituent deux lignées distinctes.

**b. Relations phylogénétiques entre le complexe BBS et les autres espèces (hormi *B. petrii*) du genre *Bordetella***

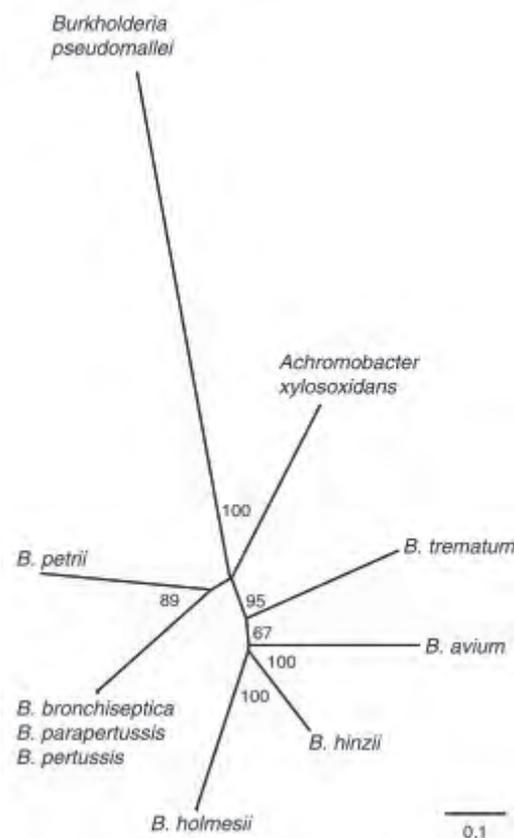
La phylogénie basée sur l'analyse de la séquence ADNr 16S des neuf espèces de *Bordetella* montre la relation étroite des espèces *B. avium*, *B. hinzii*, *B. trematum*, *B. ansorpii* et *B. petrii* aux membres du complexe BBS (Figure 7). Ces espèces sont toutefois clairement séparées des membres du complexe BBS. L'espèce *B. ansorpii*, découverte la plus récemment, semble plus proche phylogénétiquement de *B. petrii* que des autres *Bordetella* (Ko et al., 2005).



**Figure 7.** Analyse phylogénétique basée sur la séquence ADNr 16S des neuf espèces de *Bordetella* sp. (Jiyipong et al., 2013).

Étonnamment, la séquence d'ADNr 16S place *B. holmesii* au sein du complexe BBS, directement à côté de *B. pertussis* (Figure 7). Ceci est en accord avec le fait que les séquences d'insertion IS481 retrouvé chez *B. pertussis* et IS1001, retrouvé chez *B. bronchiseptica* et *B. parapertussis*, se trouvent également dans *B. holmesii* mais pas chez les autres espèces (Gerlach et al., 2001).

*A contrario*, l'analyse phylogénétique de quatre gènes domestiques positionne quant à elle *B. holmesii* à proximité immédiate de *B. avium* et *B. hinzii* (Figure 8) (Gerlach et al., 2001). La divergence des données concernant la position phylogénétique de *B. holmesii* serait liée à l'acquisition de la séquence ADNr 16S de *B. pertussis* par transfert horizontal. Cette hypothèse est confortée par deux observations. L'analyse des séquences ADNr 16S montre qu'il existe une similarité de la séquence de *B. holmesii* à hauteur de 99,5% comparativement à celle de *B. pertussis*. Cette forte similarité concerne uniquement la séquence ADNr 16S et la région intergénique séparant les gènes des ARNr 16S et 23S, mais ne concerne pas la séquence ADNr 23S. De plus, une étude par CGH a montré l'existence d'un potentiel îlot de pathogénicité qui est hautement conservé entre les espèces *B. holmesii* et *B. pertussis*. Cet îlot, contenant plusieurs éléments de la séquence d'insertion IS481, ainsi que des gènes requis pour la biosynthèse et le transport du sidérophore (système de captation du fer important en pathogénie bactérienne) alcaligine, constitue une preuve supplémentaire d'un transfert génétique horizontal qui a pu survenir entre *B. holmesii* et *B. pertussis*. La combinaison de ces analyses montre que *B. holmesii* n'est pas un membre des *Bordetella* "classiques".

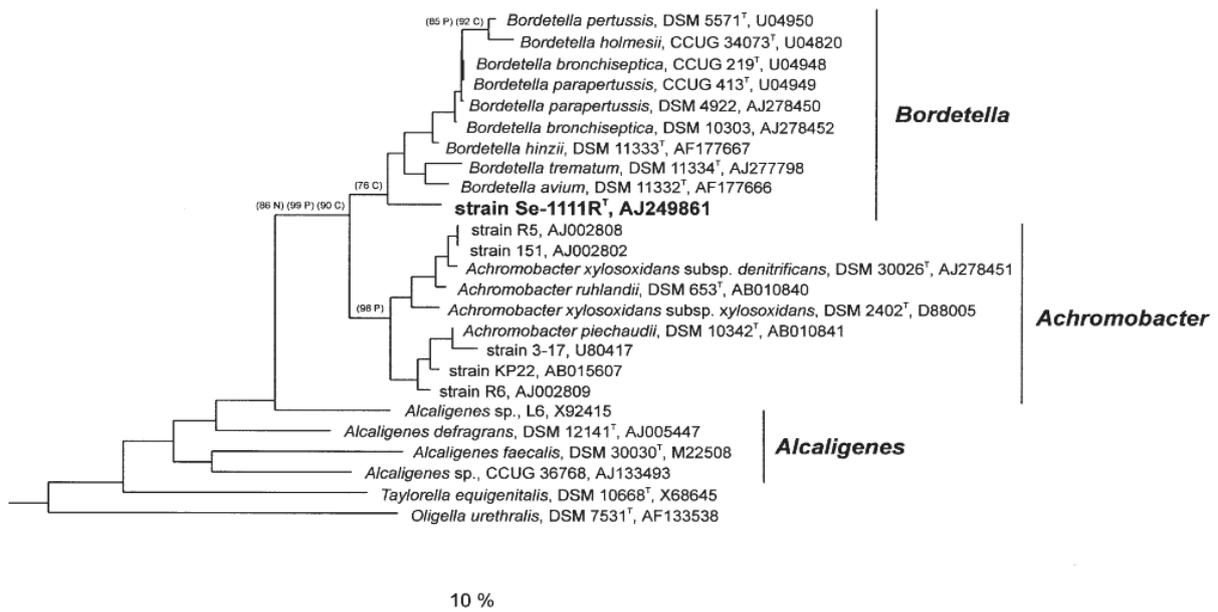


**Figure 8.** Arbre phylogénétique basée sur l'étude MLST de quatre gènes domestiques des espèces du genre *Bordetella* (*B. ansorpii* non incluse) (Diavatopoulos et al., 2006).

### c. *Bordetella petrii*, l'ancêtre commun?

L'isolat Se-1111R<sup>T</sup> est le premier isolat de *B. petrii* identifié dans la littérature (von Wintzingerode et al., 2001). Bien qu'isolé à partir de l'environnement, Se-1111R<sup>T</sup> est clairement séparé du groupe formé par les espèces environnementales des genres *Achromobacter* et *Alcaligenes*. Il a en effet été démontré que *B. petrii* était phylogénétiquement affilié au genre *Bordetella* (Figure 9).

Toutefois, d'un point de vue phylogénétique, *B. petrii* est l'espèce du genre *Bordetella* la plus étroitement liée aux bactéries des genres *Achromobacter* et *Alcaligenes*, ce qui est en adéquation avec sa niche écologique. *B. petrii* pourrait de ce fait avoir émergé à partir d'un ancêtre commun avec les bactéries du genre *Achromobacter*, genre le plus proche du genre *Bordetella*. Ces observations positionnent *B. petrii* comme l'ancêtre le plus probable des bactéries du genre *Bordetella*, ou du moins, l'espèce la plus proche de l'ancêtre commun des *Bordetella* sp.



**Figure 9.** Arbre phylogénétique basé sur l'analyse du gène ADNr 16S de l'isolat Se-1111R<sup>T</sup> et des autres membres des genres *Bordetella*, *Achromobacter* et *Alcaligenes* (von Wintzingerode et al., 2001).

L'hypothèse que *B. petrii* soit l'ancêtre des espèces de *Bordetella* actuellement décrites dans la littérature, corrobore les analyses génomiques développées dans la partie VI. 1).

## V. Pathologie comparée

### 1) *Bordetella petrii*, l'ancêtre commun

*B. petrii* a été découverte initialement dans un système de déchloration anaérobie enrichi en sédiments de rivière (von Wintzingerode et al., 2001). La bactérie a également été retrouvée au niveau de racines de plante et d'éponges marines (Gross et al., 2010).

A ce jour, aucun cas n'a été rapporté chez l'animal.

Quelques cas ont été décrits dans la littérature chez l'Homme. La majorité des cas rapportés correspond à des colonisations ou infections chez des sujets présentant un terrain pulmonaire sous-jacent type mucoviscidose (Spilker et al., 2008) ou bronchectasie diffuse (Le Coustumier et al., 2011). Deux cas d'infection chronique du tractus respiratoire montrent la persistance possible de la bactérie pendant un an voire plus au sein des voies respiratoires (Spilker et al., 2008; Le Coustumier et al., 2011).

Deux autres cas correspondent à des infections de la sphère oto-rhino-laryngée. Le premier cas décrit concerne un homme de 67 ans atteint d'ostéomyélite mandibulaire (Fry et al., 2005) et le second mentionne une mastoïdite chronique suppurative chez un homme de 30 ans (Stark et al., 2007). Enfin, Noji et *coll.* ont décrit récemment un cas d'arthrite septique et ostéomyélite survenu chez un homme de 32 ans après une fracture ouverte de l'humérus suite à un accident de motocross (Nogi et al., 2014).

L'ensemble de ces cas laisse supposer que *B. petrii* peut se manifester comme un réel pathogène opportuniste chez l'Homme. Le dernier cas décrit montre la possibilité de contamination à partir de l'environnement (Nogi et al., 2014), hypothèse déjà avancée dans le cas décrit par Le Coustumier et *coll.* (Le Coustumier et al., 2011).

## 2) *Bordetella ansorpii* et *Bordetella trematum*, les anecdotes?

Aucun cas n'a été décrit chez l'animal pour ces deux espèces.

Concernant *B. ansorpii*, deux cas cliniques humains ont été publiés en 2005 et 2007. Le premier correspond à un exsudat d'un kyste épidermique chez une patiente immunodéprimée de 19 ans (Ko et al., 2005). La bactérie, isolée au niveau de la biopsie du kyste, a pu être identifiée comme une nouvelle espèce de *Bordetella* par biologie moléculaire. Le second cas clinique est une bactériémie plurimicrobienne chez un homme de 88 ans souffrant d'une leucémie myélomonocytaire en phase d'acutisation. Les différentes paires d'hémoculture prélevées ont retrouvées plusieurs bactéries dont *Stenotrophomonas maltophilia*, *Ochrobactrum anthropi* et *Bordetella ansorpii* (Fry et al., 2007b).

Le premier cas humain de *Bordetella trematum*, décrit sous l'appellation *Bordetella avium*-like concerne un écoulement d'oreille chez un homme atteint d'otite moyenne chronique (Dorittke et al., 1995). Une dizaine d'autres cas ont été rapportés correspondant le plus souvent à des infections cutanées du bras, de la jambe, ou de la cheville (Vandamme et al., 1996) (Vandamme et al., 1996). *Bordetella trematum* est décrite comme un agent colonisateur des pieds diabétiques (Daxboeck et al., 2004; Hernandez-Porto et al., 2013). Elle est retrouvée dans des infections polymicrobiennes d'ulcères chroniques d'origine vasculaire chez des patients diabétiques ou non (Almagro-Molto et al., 2015). Enfin, un cas de bactériémie fatale est décrit par Halim et coll. pour lequel *B. trematum* a été isolée avec *Enterobacter cloacae* (Halim et al., 2014). La présence de brûlures chez ce dernier patient est en accord avec un point de départ cutané.

Malgré la faible documentation du pouvoir pathogène de ces deux espèces, ces cas soulèvent leur rôle potentiel en tant qu'agents opportunistes. Aucun cas n'a été rapporté chez l'Homme dans des colonisations ou des infections des voies respiratoires.

### 3) *Bordetella avium*, un pathogène strictement aviaire?

#### a. Atteintes respiratoires chez les volailles

Le premier isolement de l'espèce *Bordetella avium* a eu lieu chez le dindonneau en 1964 (Filion et al., 1967). *B. avium* a été initialement décrite comme agent responsable du coryza chez les dindes et dindons (Simmons et al., 1986). La bactérie a également été isolée chez d'autres types de volailles comme caille, poulet (Odugbo et al., 2006), canard, oie (Kerstens et al., 1984), perruche, perroquet, perdrix, autruche, pigeon, colombe et chez des oiseaux sauvages (Raffel et al., 2002), sans qu'une implication en pathologie ne soit toujours prouvée.

Chez le **dindonneau**, les premiers symptômes apparaissent entre une à six semaines associant larmolements, éternuements, écoulement nasal muqueux, retard de croissance lié à la dénutrition. La mort survient généralement une semaine après l'apparition des symptômes, pouvant atteindre 20% des cas. Des lésions de rhinite catarrhale, bronchite et bronchopneumopathie sont observées après autopsie (Filion et al., 1967).

Chez les **poulets**, les premiers symptômes semblent survenir vers la 14<sup>e</sup> semaine de vie, associant éternuements, écoulements nasal et oculaire clairs devenant purulents et œdème sub-mandibulaire. L'étape de chronicisation de l'infection s'accompagne d'un amaigrissement et d'une cécité unilatérale (Odugbo et al., 2006).

Chez les **cailles**, la symptomatologie s'apparente à celle évoquée chez le poulet, avec des lésions oculaires, un amaigrissement et une perte d'appétit entraînant une diminution de la production d'œufs (Odugbo et al., 2006). Les cailles, comme les poulets, peuvent être atteints de sinusites, et dans des cas sévères, de collapsus de la trachée.

#### b. Atteintes respiratoires chez l'Homme

Moins de 10 cas cliniques chez l'Homme ont été rapportés, montrant son potentiel rôle pathogène opportuniste. Ces cas font état d'affections pulmonaires chez des sujets présentant un terrain pulmonaire débilisé, notamment mucoviscidose (Spilker et al., 2008) (Harrington et al., 2009).

#### **4) *Bordetella hinzii*, passerelle entre *Bordetella avium* et *Bordetella bronchiseptica***

##### **a. Atteintes respiratoires chez les volailles**

Chez les volailles, *B. hinzii* a été initialement décrite comme un agent de colonisation du tractus respiratoire par Vandamme et *coll.* en 1995 (Vandamme et al., 1995). Sur 12 isolats étudiés, aucun ne semblait associé à une réelle infection des voies respiratoires. Les travaux de Register et *coll.* en 2003 nuancent cette hypothèse en émettant un potentiel rôle pathogène pour certains isolats plus virulents de *B. hinzii* chez les volailles (Register et al., 2003), hypothèse confirmée en 2009 par la même équipe (Register and Kunkle, 2009) montrant la survenue de lésions trachéales dans certains cas chez le dindonneau et une possible colonisation sans survenue de lésions chez les poussins.

##### **b. Atteintes respiratoires chez les mammifères**

Un cas sporadique est décrit dans la littérature chez un **lapin** en Hongrie (Register et al., 2003) sans qu'un rôle pathogène ne soit attribué à l'isolat.

Enfin, *B. hinzii* a été également mise en évidence chez les **rongeurs**. Une étude expérimentale chez la **souris** montre son implication possible comme pathogène respiratoire dans des cas de rhinites catarrhales, de broncho-pneumopathies et même de pneumopathies interstitielles chez des souris SCID après infection expérimentale (Hayashimoto et al., 2008). Une deuxième étude menée par Hayashimoto et *coll.* en 2012 montre une prévalence de 1,6 % de souris colonisées par *B. hinzii* au niveau trachéal au sein de 1 572 laboratoires de recherche universitaire et instituts de recherche publics, soit 195 sur 12 192 souris au total. Les souris détectées positives présentent pour certaines des lésions, montrant un potentiel rôle de *B. hinzii* en pathologie. Parmi les 731 souris testées émanant de 127 centres de recherche de l'industrie pharmaceutique, aucune n'a été détectée positive pour *B. hinzii* (Hayashimoto et al., 2012).

En 2013, Jiyipong et *coll.* ont décrit un cas de bactériémie chez le **rat** suite à une analyse d'échantillons sanguins de rats émanant de différentes zones géographiques du delta du Mekong (Jiyipong et al., 2013).

La présence de la bactérie chez les rongeurs fait de ces animaux un potentiel réservoir de la bactérie.

### **c. Bactériémies chez l'Homme**

*B. hinzii* a été décrite pour la première fois en 1994, comme agent causal d'une bactériémie sur cathéter chez un patient atteint du VIH au stade SIDA (31 lymphocytes T CD4/mm<sup>3</sup> trois mois avant l'admission) (Cookson et al., 1994). *B. hinzii* a également été isolée lors d'un cas de septicémie fatale chez un patient immunocompétent de 69 ans (Kattar et al., 2000) hospitalisé dans un contexte de cholestase, nausées et vomissements. Un troisième cas de bactériémie a été décrit chez un patient atteint d'un syndrome myélodysplasique (Fry et al., 2007a) admis pour fièvre et malaise associés à une symptomatologie respiratoire. Enfin, Hristov et coll. mettent en évidence en 2008 *B. hinzii* dans les hémocultures d'une femme de 36 ans atteinte d'un lymphome lié à Epstein Barr Virus (Hristov et al., 2008).

### **d. Atteintes respiratoires chez l'Homme**

Le premier cas décrit daterait de 1957 où *B. hinzii* avait été isolée à partir d'une expectoration d'un patient français d'âge et sexe non précisés. La bactérie avait été alors identifiée en tant que *Alcaligenes faecalis* (Vandamme et al., 1995) avant d'être reclassifiée dans les travaux ultérieurs de Vandamme et ses collaborateurs.

Dans leur publication de 1996, Funke et coll. décrivent l'isolement à 8 reprises entre mars 1992 et mars 1993 de *B. hinzii* dans les expectorations d'un homme de 57 ans atteint de mucoviscidose admis à plusieurs reprises pour exacerbations pulmonaires. Deux isolats de sensibilité différente sont mis en évidence au cours de cette période. *B. hinzii* est retrouvée conjointement avec du *Staphylococcus aureus* dans tous les échantillons sauf deux, où c'était le seul micro-organisme isolé (Funke et al., 1996).

Quelques années plus tard, Vandamme et coll. mettent en évidence le germe dans les expectorations d'un fermier asymptomatique (Vandamme et al., 1995) (Kattar et al., 2000).

*B. hinzii* est également isolée dans le lavage broncho-alvéolaire d'un patient VIH atteint d'une infection des voies respiratoires, associée à *Nocardia asteroides* (Gadea et al., 2000).

Les cas de bactériémies présentés par Fry et *coll.* en 2007 et Hirstov et *coll.* en 2008 sont associés avec un isolement de la bactérie à la fois dans les hémocultures et dans les expectorations des patients, bien qu'une symptomatologie respiratoire ne soit décrite que dans le cas de Fry et *coll.*

En 2013, *B. hinzii* est retrouvée associée à *Klebsiella oxytoca* dans l'expectoration d'une femme immunocompétente de 85 ans atteinte de symptômes respiratoires type toux, dyspnée (Palacian Ruiz et al., 2013). De plus, Peter Vandamme aurait reçu des échantillons pour confirmation d'identification de *B. hinzii* dans les expectorations de patients mucoviscidosiques (données non publiées) (Arvand et al., 2004).

Enfin, nous décrivons deux cas d'infections respiratoires à *B. hinzii*. Le premier cas concerne un patient immunodéprimé de 43 ans hospitalisé au CHU de Rennes pour exacerbation bronchique. Quinze mois auparavant, le diagnostic de leucémie aigüe myéloblastique l'avait contraint à suspendre son activité d'hydrocureur. Cette activité consiste à nettoyer au jet haute pression les canalisations de déchets dans des usines d'abattage de volailles. Il s'agit du premier cas de la littérature où une contamination à partir du réservoir aviaire peut être fortement suspectée. L'infection pulmonaire, survenue 15 mois après, montre que *B. hinzii* est capable de persister pendant une longue période dans le tractus respiratoire. Le deuxième cas concerne un patient de 74 ans atteint d'un cancer oto-rhino-laryngé, hospitalisé au CHU de Bordeaux pour exacerbation de broncho-pneumopathie obstructive chronique et écoulements purulents de l'orifice de trachéotomie. Fortuitement, la bactérie a été retrouvée au cours d'un dépistage rectal de bactéries multi-résistantes. Cette découverte montre la capacité de *B. hinzii* à coloniser le tube digestif (Fabre et al., 2015).

#### **e. Atteintes digestives chez l'Homme**

Le cas de bactériémie publié par Kattar et *coll.* en 2000 fait état d'une symptomatologie digestive associée (Kattar et al., 2000), le patient étant initialement

hospitalisé pour fièvre, cholestase avec rétrécissement de l'ampoule de Vater et du canal biliaire.

Quelques années plus tard, *B. hinzii* est décrite comme agent responsable de cholangite chronique chez un patient transplanté hépatique sous immunosuppresseurs (Arvand et al., 2004). *B. hinzii* est retrouvée à quatre reprises chez ce patient entre octobre 2000 et mars 2001 au niveau d'échantillons de bile.

Il n'y a pas ou peu de données concernant les réservoirs possibles, hormis les volailles, les souris et les rats pouvant être de potentiels réservoirs de cette bactérie (Vandamme et al., 1995; Hayashimoto et al., 2008; Jiyipong et al., 2013).

La porte d'entrée semble être pulmonaire dans la plupart des cas où une symptomatologie pulmonaire est associée. La contamination à partir du réservoir aviaire a pu être mise en évidence récemment (Fabre et al., 2015). L'hypothèse d'une contamination par voie orale par ingestion de poulet contaminé est également évoquée dans la littérature (Kattar et al., 2000) (Arvand et al., 2004).

*B. hinzii* est capable de persister à la fois au niveau pulmonaire et au niveau digestif (Funke et al., 1996; Arvand et al., 2004; Fabre et al., 2015). La survenue de l'infection longtemps après la contamination peut rendre la détermination de la source difficile (Fabre et al., 2015).

Son rôle pathogène n'est pas clairement établi, notamment chez les sujets atteints de pathologie pulmonaire où la bactérie est majoritairement décrite comme micro-organisme colonisant le tractus respiratoire. Cependant, son rôle pathogène opportuniste doit être évoqué dans tous les cas où *B. hinzii* est la seule étiologie retrouvée.

## 5) *Bordetella bronchiseptica*, la polyvalente

L'espèce *B. bronchiseptica* a été initialement décrite en pathologie vétérinaire (Mathewson and Simpson, 1982), et est responsable majoritairement d'atteintes respiratoires chez les animaux.

Depuis sa découverte par Ferry en 1910, *B. bronchiseptica* a été isolée chez différents animaux : chien, chat, lapin, furet, lapin, cobaye, souris, porc, rat, renard, hérisson, cheval, volaille et également chez le phoque... (Goodnow, 1980; Kuiken et al., 2006). La frontière entre colonisation et infection n'est pas toujours clairement définie.

Son implication en pathogénie chez l'animal s'est clarifiée à partir des années 1940. Switzer définit le rôle de la bactérie dans la rhinite atrophique et Phillips dans la broncho-pneumopathie du porc (Coward et al., 1989) (Goodnow, 1980). En 1975, Wright démontre l'implication de *B. bronchiseptica* dans la symptomatologie associée à la « toux des chenils » (Thompson et al., 1975). Les atteintes oto-rhino-laryngées du porc et les trachéobronchites canines imputables à *B. bronchiseptica* sont maintenant bien connues dans le monde vétérinaire. D'autres cas plus sporadiques sont décrits, comme des septicémies chez le chat (Snyder et al., 1973), des infections chez le cochon d'inde (Yoda et al., 1972)...

### a. Atteintes oto-rhino-laryngées et pulmonaires chez les suidés

Lors des travaux de Cross et coll., *B. bronchiseptica* est isolée chez 9 porcelets de moins de neuf semaines atteints de **rhinite atrophique**. *B. bronchiseptica* isolée en culture pure est capable de produire après instillations intra-nasales des lésions de rhinite atrophique chez des porcelets expérimentaux (Cross, 1962).

Chanter et coll. démontrent en 1989 que l'infection par *B. bronchiseptica* seule est à l'origine de formes non progressives et transitoires, tandis que l'association de *B. bronchiseptica* avec *Pasteurella multocida* est corrélée avec une forme chronique de rhinite progressive. *B. bronchiseptica* entrainerait une dermonécrose propice à la croissance des isolats pathogènes de *P. multocida* au niveau de la muqueuse des cornets nasaux, en liaison avec une symptomatologie plus sévère que lorsque *B. bronchiseptica* est isolée seule (Chanter et al., 1989; Ackermann et al., 1991).

L'infection par *B. bronchiseptica* se traduit par une rhinite avec hypoplasie des cornets nasaux atteignant plus fréquemment les porcelets âgés de moins de 8 semaines. Les porcelets atteints de rhinites non surinfectées guérissent généralement sans séquelles. Plus rarement, la bactérie est isolée chez des animaux atteints de **pneumopathies** (Coward et al., 1989).

Le modèle expérimental proposé par Kobisch et coll. met en évidence une relation de dose-à-effet, avec une survenue des cas les plus graves (hyperthermie, lésions de pneumonie et pleurésie très étendues, voire mort) chez les sujets qui ont reçu un inoculum plus important par instillation (Kobisch et al., 1979).

## **b. Trachéobronchite canine**

En 1910, Ferry retrouve après autopsie de 93 chiots souffrant de "**toux des chenils**" un bacille gram négatif en culture pure dans 71 cas, isolé à partir de prélèvements sanguins dans 15 cas, et associé à du staphylocoque ou d'autres germes dans 21 cas. Le sérum des chiens malades donne une agglutination positive avec l'organisme isolé, mettant en évidence une réaction sérologique de l'hôte. La symptomatologie décrite par Ferry revêt la forme d'une fièvre catarrhale affectant principalement les jeunes chiens, et pouvant être associée à des manifestations du système nerveux ou à des éruptions cutanées (Ferry, 1910). *B. bronchiseptica* (*Bacillus bronchicanis* à cette époque) est proposée comme étiologie bactérienne de la maladie décrite par Carré cinq ans auparavant, pour laquelle une étiologie virale sera ultérieurement reconnue (Goodnow, 1980).

La trachéobronchite canine est considérée comme une maladie hautement contagieuse, pouvant affecter le chien à tout âge. Généralement résolutive en 1 à 3 semaines, elle peut causer une symptomatologie sévère de toux sèche persistante plus ou moins associée à des nausées et vomissements, pouvant parfois conduire à la mort. La toux des chenils a été longtemps considérée comme une pathologie complexe alliant composantes virales et bactériennes. La recherche de son étiologie n'a cessé de susciter un intérêt tant son impact économique sur la perte animale dans les collectivités canines était importante.

Le rôle de *B. bronchiseptica* en tant qu'agent pathogène majeur de la toux des chenils a été longtemps remis en question, en raison de l'implication de nombreux virus -adénovirus canin, herpes virus, reovirus, virus parainfluenzae canin SV5- et des mycoplasmes dans les

affections respiratoires canines mais également en raison des difficultés à reproduire la maladie dans des conditions expérimentales (Thompson et al., 1975; Thompson et al., 1976). Les travaux de Wright et *coll.* publiés en 1973, suivis de ceux de Thompson et *coll.* publiés en 1976, ont permis de montrer que l'inoculation par aérosol d'une culture pure de *B. bronchiseptica* entraînait chez les jeunes chiens une symptomatologie respiratoire typique de celle retrouvée dans la toux des chenils (Wright et al., 1973) (Thompson et al., 1976). Bemis et *coll.* mettent en évidence en 1977 la présence de la bactérie au niveau des cils de l'épithélium respiratoire des cavités nasales, trachéales, et bronchiques, et sa persistance possible jusqu'à quatorze semaines après une inoculation expérimentale (Bemis et al., 1977) mettant en exergue le potentiel de *B. bronchiseptica* à pouvoir persister au niveau du tractus respiratoire.

### **c. Atteintes respiratoires chez l'Homme**

En 1991, Woolfrey et Moody publient une revue de 25 cas de pathologies associées à *B. bronchiseptica* chez l'Homme. Cependant, parmi ces 25 cas, seulement dix sont suffisamment documentés microbiologiquement ou ont pu être testés *a posteriori* afin d'affirmer qu'il s'agissait bien de l'espèce *B. bronchiseptica*. Ces 10 cas vérifiés correspondent à une sinusite maxillaire, une trachéobronchite nosocomiale, deux pneumopathies aiguës, une pneumopathie avec septicémie, deux septicémies sans porte d'entrée précisée, et trois syndromes coquelucheux chez des sujets au terrain le plus souvent débilisé (alcoolisme, diabète, hémopathie...) (Woolfrey and Moody, 1991; Le Coustumier, 2003). Un contact avec le monde animal n'est pas toujours associé.

Une étude réalisée de 1990 à 2000, coordonnée par le Docteur Nicole Guiso du CNRS de la coqueluche et des autres bordetelloses (Institut Pasteur, Paris) et le Docteur Alain Le Coustumier, avec la participation des biologistes membres du Collège de Bactériologie, Virologie et d'Hygiène (Col BVH) a permis d'obtenir 106 isolats de *Bordetella bronchiseptica*. Soixante-douze isollements de 52 patients dont 10 pédiatriques suffisamment documentés montrent que l'immense majorité des cas intéresse l'arbre respiratoire. Parmi les 10 cas pédiatriques, cinq syndromes coqueluchoïdes chez quatre nourrissons et une enfant non vaccinée sont recensés, ainsi que deux surinfections et une colonisation de mucoviscidose, une infection chez un enfant au stade SIDA et une chez un enfant atteint d'un lymphome sous chimiothérapie. Parmi 39 cas des patients de 17 à 83 ans, tous sauf un présentent une

pathologie favorisante broncho-pulmonaire ou une immunodépression sévère associée (infection VIH à un stade avancé, terrain alcoolique...) (Le Coustumier, 2003). Des colonisations et des infections des voies aériennes sont décrites chez les patients atteints de mucoviscidose (Spilker et al., 2008), confirmant les données de l'étude menée avec le ColBVH.

L'expression clinique peut être fruste les premiers jours, avec l'installation progressive d'une douleur pharyngée et d'une dysphagie. Puis suivent toux sèche, parfois des quintes coqueluchoïdes rapidement productives mais rarement des expectorations purulentes. Une dyspnée sévère peut compliquer le tableau, notamment chez les sujets débilités sur le plan respiratoire. Anorexie, amaigrissement, diarrhée, rhinorrhées et conjonctivite sont des signes qui peuvent compléter le tableau clinique. La fièvre est quasi constante, et peut être élevée jusqu'à 40°C. Ce tableau clinique peut être accompagné de signes radiologiques, mais qui ne sont pas spécifiques. Un syndrome inflammatoire avec hyperleucocytose à PNN est très souvent retrouvé, mais pas l'hyperlymphocytose caractéristique de la coqueluche (Le Coustumier, 2003).

Pour certains patients, les isolements peuvent être multiples et prolongés (plus de deux ans dans certains cas) montrant la persistance possible de la bactérie au niveau du tractus respiratoire (Le Coustumier et al., 1995). Le rôle pathogène opportuniste de *B. bronchiseptica* est actuellement bien établi (Yacoub et al., 2014)

La transmission à l'Homme a été mise en évidence en 1995 grâce à une observation particulièrement étayée amenant la preuve d'une contamination à partir d'un élevage de lapins infectés, le jeune chat de ferme, lui aussi symptomatique, ayant certainement servi de vecteur vers la patiente (Gueirard et al., 1995; Le Coustumier et al., 1995). Récemment, 8 cas d'infections humaines à *B. bronchiseptica* ont été recensés à l'hôpital de Genève en Suisse. Trois des patients possédaient un chat à leur domicile, parmi lesquels un présentait des symptômes respiratoires (Wernli et al., 2011).

## 6) *Bordetella holmesii*, l'énigmatique

A ce jour, aucun isolement de cette bactérie dans le monde animal n'est mentionné dans la littérature.

### a. Bactériémies chez l'Homme

Depuis 1995, plusieurs publications relatent l'implication de *B. holmesii* comme agent de bactériémie. Une revue de trente cas par Shepard et *coll.* sur la période allant de 1983 à 2000 fait état de bactériémies affectant principalement les sujets jeunes (85 % des patients de moins de 40 ans). Sur les 26 cas documentés, 22 présentent une asplénie anatomique ou fonctionnelle (dont 38% de patients drépanocytaires), 3 autres sont des patients immunodéprimés (corticothérapie au long cours, patient VIH, transplanté rénal) et le dernier est un enfant sans antécédent médical spécifié (Lindquist et al., 1995; Weyant et al., 1995; Morris and Myers, 1998; Tang et al., 1998; Njamkepo et al., 2000; Greig et al., 2001; Russell et al., 2001)

En 1998, Tang et *coll.* isolent *B. holmesii* chez 3 patients immunodéprimés dont un adolescent asplénique, un patient ayant un antécédent de lymphome de Hodgkin pour lequel le diagnostic d'endocardite sera retenu et une patiente présentant une décompensation respiratoire sur un terrain de bronchopneumopathie obstructive chronique. Il s'agit d'une des premières publications où une porte d'entrée pulmonaire est proposée (Tang et al., 1998).

Plus récemment, Tartof et *coll.* recensent 22 cas de bactériémies survenus dans différents états des USA entre avril 2010 et janvier 2011. L'âge moyen lors de la survenue de l'épisode bactériémique était 17,1 ans. Une asplénie fonctionnelle ou anatomique est observée dans 64% des cas (Tartof et al., 2014).

### b. Pseudo-coqueluche et pneumopathies à *B. holmesii* chez l'Homme

Dès 1999 apparaissent les premières publications où sont décrites des infections type coqueluche imputables à *B. holmesii* (Yih et al., 1999; Mazengia et al., 2000). Plusieurs études évoquent une présentation clinique similaire au syndrome coquelucheux avec présence d'une toux, de fièvre et de vomissements générés par les efforts de toux.

Une étude menée dans le Massachusetts entre janvier 1995 et décembre 1998 retrouve *B. holmesii* chez 33 patients présentant des signes cliniques de coqueluche, après culture d'écouvillonnages nasopharyngés. Une investigation clinique approfondie sur 23 cas démontre que tous présentent une toux avec un caractère paroxystique pour 14 cas (61%) et un "chant du coq" pour 2 cas (9%) parmi les 23. Six personnes (26%) présentent des vomissements post toux (Yih et al., 1999). La population de l'étude est constituée principalement d'adolescents et d'adultes.

L'étude française de Njamkepo et coll. sur 177 patients a mis en évidence *B. holmesii* par PCR dans 6.8% (n=12) des cas et *B. pertussis* dans 92% (n=163) des cas. *B. holmesii* était retrouvée chez 20,3% des patients de plus de 9 ans (n=59) suspects de coqueluche. Dans cette étude, aucun des enfants de 9 ans ou moins (n=119) n'était positif pour *B. holmesii*, ce qui montre que cette bactérie semble plutôt affecter les adolescents et les adultes. Aucun cas de coinfection *B. holmesii* - *B. pertussis* n'est rapporté (Njamkepo et al., 2011).

Deux études sud-américaines ont mis en évidence *B. holmesii* chez des patients présentant un syndrome coquelucheux. En Argentine, Bottero et coll. rapportent 8 cas chez des enfants de moins de 1 an (Bottero et al., 2013) sur une période d'étude de 6 mois. L'étude chilienne de Miranda et coll. sur 99 échantillons positifs pour la séquence d'insertion IS481 retrouvé chez *B. pertussis* mais également chez *B. holmesii*, montre que 88,9% des échantillons correspondent en fait à *B. pertussis* et 11,1% à *B. holmesii*. Contrairement à l'étude de Njamkepo et coll., 13,7% des patients de 9 ans ou moins sont positifs pour *B. holmesii* indiquant que la bactérie peut être retrouvée à toutes les tranches d'âge (Miranda et al., 2012). Une autre étude réalisée par Miranda et coll. en 2013 a permis d'évaluer à 0,6% la prévalence de *B. holmesii* lors d'une épidémie de coqueluche survenue au Chili (soit 12 échantillons positifs sur 1994 aspirations nasopharyngées prélevées) (Miranda et al., 2013).

Une étude réalisée dans l'Ohio sur la période allant de mai 2010 à mai 2011 par Rodgers et coll. montre les similitudes entre les symptômes générés par *B. pertussis* et *B. holmesii*. Cependant, la toux perdure plus longtemps chez les patients positifs à *B. pertussis* que ceux positifs à *B. holmesii*. Sur 298 échantillons nasopharyngés testés avec des PCR spécifiques, différentes espèces de *Bordetella sp.* ont pu être identifiées dans 164 échantillons: 48 échantillons (29%) correspondent à *B. holmesii*, 112 (68%) à *B. pertussis* et les deux espèces sont retrouvées conjointement dans 4 échantillons (2%) (Rodgers et al., 2013).

45% des patients âgés de 11 à 18 ans avec un syndrome coquelucheux ont été diagnostiqués à *B. holmesii* et non à *B. pertussis*. L'absence de recherche d'autres étiologies ayant pu causer la symptomatologie (mycoplasmes ou viroses pulmonaires) ne permet cependant pas de trancher sur le rôle pathogène de *B. holmesii* dans cette étude.

Enfin, une étude menée à l'hôpital de Bucarest en Roumanie et incluant 51 patients sur une période de 1 an a permis de mettre en évidence 6 cas de coinfections *B. pertussis* - *B. holmesii*. Quatre de ces patients étaient âgés de plus de 12 ans, un avait 7 ans, et le dernier 7 mois (Dinu et al., 2014). Ces cas confirment la possibilité de coinfections et d'atteintes respiratoires chez les enfants en bas âge.

Contrairement aux autres études, *B. holmesii* n'a été retrouvée dans aucun des 11 319 prélèvements nasopharyngés chez des patients suspects de coqueluche au Pays Bas et en Finlande (Antila et al., 2006). L'absence de *B. holmesii* dans tous les prélèvements testés pourrait être liée au recrutement de l'étude, constitué essentiellement d'enfants en bas âge. Bien que ces derniers puissent être atteints d'infections à *B. holmesii*, les cas rapportés dans la littérature correspondent le plus souvent à des adolescents et des adultes.

A ce jour, le mode de transmission de *B. holmesii* n'a pas été élucidé. Kamiya et coll. affirment qu'une transmission inter-humaine est possible (Kamiya et al., 2012). Cette hypothèse peut être remise en question car ni une contamination à la même source ni la recherche d'autres étiologies n'ont été réalisées dans cette étude.

Hormis les cas rapportés potentiellement associés à des symptômes coquelucheux, *B. holmesii* serait impliqué dans d'autres types d'**infections respiratoires haute ou basse**. Deux cas de pneumopathies associées à une bactériémie sont présentés dans la littérature : *B. holmesii* est isolé avec *Moraxella catarrhalis* dans le liquide pleural d'un adolescent de 15 ans présentant un syndrome néphrotique chronique sous corticothérapie (Dorbecker et al., 2007). La bactérie est aussi retrouvée dans le liquide pleural et la biopsie pulmonaire d'une jeune fille de 14 ans, en bonne santé préalable mais dont l'état général s'est aggravé les 6 derniers mois. Le tableau clinique associe lymphopénie, thrombopénie, coagulopathie, pancréatite subclinique, collections médiastinales et épanchement péricardique (Russell et al., 2001)... Un cas de bronchite est décrit chez une fillette de 2 ans : *B. holmesii* est retrouvée en culture pure. Cependant, aucune étiologie virale n'a été recherchée (Katsukawa et al., 2013).

### c. Autres tableaux cliniques invasifs chez l'Homme

Neuf cas d'**endocardite** à *B. holmesii* ont été mis en évidence (Couturier and Dahl, 2014; Pittet et al., 2014) sur valves natives ou prothétiques (Tang et al., 1998; Shepard et al., 2004; Clare et al., 2010; Bassetti et al., 2012; Jonckheere et al., 2012; Soloaga et al., 2013; Couturier and Dahl, 2014). La plupart des cas survenait sur terrain débilité (maladie de Hodgkin, lupus érythémateux systémique sous immunosuppresseur) ou splénectomisé. L'évolution après traitement antibiotique et remplacement de la valve était généralement favorable.

Un cas de **péricardite** chez un homme de 71 ans, immunodéprimé (lymphome malin sans rémission complète après 8 cycles de chimiothérapie) est mentionné dans la littérature (Nei et al., 2012). Le patient a nécessité de 2 mois d'hospitalisation en raison de la survenue d'un effet myélotoxique de la première ligne d'antibiothérapie par ceftriaxone. La collection péricardique ne s'est pas reformée après drainage et antibiothérapie.

Deux cas de **méningite** sont rapportés (Livovsky et al., 2012; Van Balen et al., 2012). Le premier est survenu chez une femme de 39 ans splénectomisée avec de multiples antécédents (hémodialyse pour insuffisance rénale depuis 4 ans dans le cadre des complications d'un lupus érythémateux systémique, splénectomie 17 ans avant l'épisode pour purpura thrombopénique idiopathique, plusieurs épisodes infectieux dont une ostéomyélite à *Streptococcus pyogenes* et une méningite à pneumocoque) (Livovsky et al., 2012). Le second cas concernait une jeune fille anorexique de 12 ans (Van Balen et al., 2012).

Des cas d'**arthrite septique** prothétique ou non sont également publiés. Un de ces cas correspond à un garçon de 15 ans splénectomisé dans le cadre d'une anémie hémolytique chronique (Moissenet et al., 2011). Deux cas sont recensés dans la publication de Abouanaser et coll. dont une femme de 54 ans immunocompétente ayant présenté une arthrite septique sur prothèse de genou droit, et un garçon de 15 ans sans antécédents notables avec une arthrite survenu après un traumatisme accidentel (Abouanaser et al., 2013).

Enfin, *B. holmesii* a été isolée à 4 reprises chez un patient de 67 ans sous rituximab sur une période de 2 mois et demi. Ce patient a présenté par ailleurs 3 épisodes de **cellulite** de la jambe gauche et un épisode de **pneumopathie**. Un portage de *B. holmesii* a été retrouvé au

niveau nasopharyngé. Ce cas révèle la persistance possible de cette bactérie au niveau nasopharyngé. Il n'a pas été observé d'autres épisodes de bactériémie après arrêt du rituximab (Nguyen et al., 2013).

Aucun réservoir n'a à ce jour été identifié. La porte d'entrée pulmonaire semble la plus probable en raison du portage dans l'aire nasopharyngée ou dans le tractus respiratoire (Shepard et al., 2004) (Nguyen et al., 2013). Toutefois, lors des travaux de Weyant et coll, une bactériémie suite à une morsure de chien est signalée mais aucune recherche chez l'animal n'a été effectuée (Weyant et al., 1995).

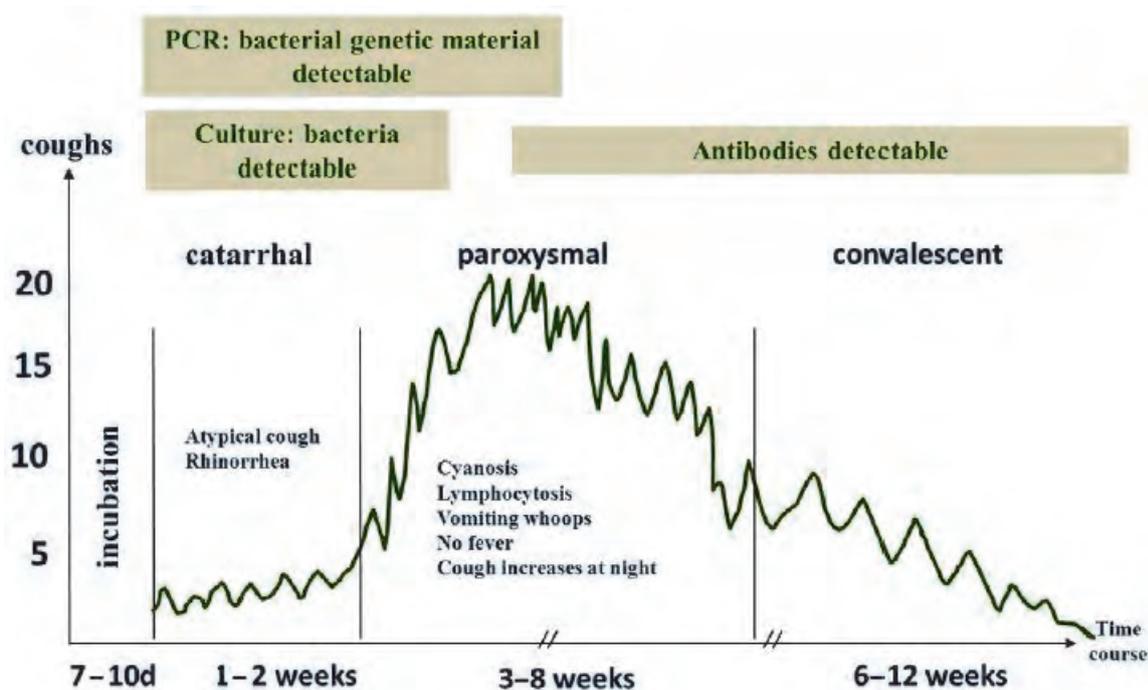
Les tableaux cliniques présentés ont lieu le plus souvent chez des sujets aspléniques (McCavit et al., 2008; Monnier et al., 2010; Panagopoulos et al., 2010; Barrado et al., 2011) ou débilisés sur le plan immunitaire (Shepard et al., 2004). Parmi les cas rapportés, seulement de rares cas sont graves (Russell et al., 2001) et aucun n'a conduit à une issue fatale. Présentée dans de nombreuses publications comme un pathogène opportuniste, son implication en pathologie n'est pas bien établie.

## **7) *Bordetella pertussis* et *Bordetella parapertussis*, agents de la coqueluche**

*B. pertussis* est un pathogène strictement humain responsable de la coqueluche. Cette dernière serait responsable de 195 000 décès chez les enfants et de 16 millions de cas d'infection dont 95% surviennent dans les pays en voie de développement (OMS, 2008) (Hegerle and Guiso, 2013). Les symptômes de la coqueluche dure entre 6 et 12 semaines et sont habituellement divisés en trois phases (phase catarrhale, phase paroxystique et phase de convalescence) précédées par une période d'incubation de 7 à 10 jours (Figure 10) (Hegerle and Guiso, 2013; Guiso, 2015).

La **phase catarrhale** (7 à 14 jours), durant laquelle le sujet est très contagieux, peut facilement être confondue avec une infection virale, rendant le diagnostic précoce relativement difficile. Le sujet est généralement apyrétique. La toux devient plus fréquente et s'intensifie durant cette période, ce qui conduit à la **phase paroxystique**. Pendant la phase paroxystique (2 à 8 semaines), le sujet présente des épisodes répétés de quintes de toux, le plus souvent nocturnes, suivie par des reprises inspiratoires difficiles présentant un bruit

caractéristique mimant le "chant du coq". Cette phase peut être accompagnée de vomissements liés aux efforts générés par les quintes de toux, mais également d'apnée, de bradycardie, de cyanose, d'hypoglycémie... A l'extrême, elle peut conduire à des lésions cérébrales d'origine hypoxique et hypoglycémique pouvant entraîner des convulsions, une encéphalopathie et même une mort subite. La **phase de convalescence** est progressive et se caractérise par une diminution de la fréquence et de la gravité des symptômes. L'expression clinique est soumise à la susceptibilité individuelle, mais aussi au statut vaccinal. Les personnes non vaccinées ou dont la vaccination date de plus de 15 ans présentent généralement des symptômes plus graves. Dans les zones où la vaccination est pratiquée, les cas observés de coqueluche correspondent à des formes plus modérées avec un période paroxystique plus courte, et l'absence de vomissements (Guiso et al., 2011a; Guiso et al., 2011b).



**Figure 10.** Les différentes phases de la coqueluche et les diagnostics biologiques associés (Guiso, 2015).

Les patients non traités peuvent être contagieux pendant trois semaines ou plus après le début des accès typiques de toux. Le traitement permet de réduire la contagiosité mais n'impacte pas l'évolution de la maladie, sauf s'il est administré très précocement (dans les premiers jours), ce qui en pratique n'est réalisé que pour les cas contacts (Guiso, 2015).

Le terme de coqueluche aurait plusieurs explications possibles. La plus fréquemment rencontrée est l'homologie entre le bruit généré par les reprises inspiratoires difficiles des quintes de toux et le chant du coq. Par ailleurs, il pourrait venir de l'utilisation traditionnelle du coquelicot pour ces propriétés calmantes, pectorales et narcotiques ou encore du coqueluchon (*cucullum* en latin), capuchon utilisé par le malade pour se protéger du froid. L'étymologie du mot "quinte" vient du latin *quinta*, qui signifie cinq, faisant référence aux accès de toux survenant toutes les cinq heures selon Guillaume de Baillou (Hansen and Freney, 2002).

*B. parapertussis* a été décrite initialement comme un agent responsable de formes atténuées de coqueluche chez l'Homme. Toutefois, il est impossible cliniquement de distinguer *B. pertussis* de *B. parapertussis*. Les deux espèces peuvent être responsables d'épidémies de coqueluche, bien que *B. parapertussis* soit moins fréquemment isolée que *B. pertussis*. Par ailleurs, deux cas de bactériémie à *B. parapertussis* ont été récemment mis en évidence chez deux enfants. Le premier présentait un contexte asthmatique avec prise de corticostéroïdes, et le second une leucémie aigue lymphoblastique sous chimiothérapie. La porte d'entrée pulmonaire n'a pu être clairement identifiée que dans un seul cas, mais était fortement suspectée pour le second (Wallihan et al., 2013).

*B. parapertussis* est également responsable de bronchopneumopathies chez les ovins (Chen et al., 1989), initialement décrites en Nouvelle Zélande et en Ecosse (Martin, 1996).

## VI. Evolution au sein du genre *Bordetella* et adaptation à l'hôte

L'adaptation des bactéries du genre *Bordetella*, du potentiel ancêtre *B. petrii*, bactérie environnementale sporadiquement retrouvée chez l'Homme, à *B. pertussis*, bactérie strictement humaine inapte à toute survie dans l'environnement, est probablement l'aboutissement de plusieurs facteurs dont les principaux sont développés dans cette partie.

D'un point de vue général, la survenue de mutations au niveau de gènes est une source majeure de variations phénotypiques aboutissant à l'adaptation *via* la sélection naturelle. La perte et l'acquisition de gènes sont deux événements majeurs qui concourent également à l'émergence et l'évolution de bactéries pathogènes (Ochman and Moran, 2001).

Par ailleurs, des facteurs dépendants de l'interaction avec l'hôte conditionnent l'évolution et l'adaptation à l'hôte. Parmi eux, l'interaction avec les barrières cellulaires et moléculaires de l'hôte, l'aptitude de la bactérie à croître, se répliquer et persister en utilisant des nutriments présents dans les tissus d'accueil, l'interaction avec le système immunitaire de l'hôte, l'aptitude à sortir et à infecter de nouveaux hôtes sont autant de phénomènes intriqués qui méritent d'être cités (Ochman and Moran, 2001).

### 1) Modification de la taille du génome

Le génome du premier isolat de *B. petrii* (Se-1111R<sup>T</sup>) mis en évidence a une taille de 5 287 950 pb, ce qui correspond à peu près à la taille de celui de *B. bronchiseptica* (5 338 400 pb). Leurs capacités codantes sont identiques (5 034 CDSs ou Coding DNA Sequences pour *B. petrii*, *versus* 5 007 CDSs pour *B. bronchiseptica*). Les génomes de *B. pertussis* (4 086 186 pb), *B. parapertussis* (4 773 551 pb) et *B. avium* (3 732 255 pb) sont plus petits (Tableau 2). La réduction de taille du génome est liée à la perte de gènes par des phénomènes de délétion. Cette perte concerne essentiellement des gènes impliqués dans le métabolisme (von Wintzingerode et al., 2002).

Cette observation est en adéquation avec les conditions culturelles plus fastidieuses et l'inaptitude à survivre dans l'environnement de *B. pertussis* par rapport aux espèces *B. bronchiseptica* et *B. petrii*. En effet, la présence de voies métaboliques permettant

l'utilisation de gluconate, de composés de plantes, de cyanate (source d'azote) ou de composés aromatiques comme source d'énergie a été mise en évidence chez *B. petrii*, alors que les autres espèces en sont dépourvues (Gross et al., 2008). De manière analogue, un set de gènes uniques codant pour plusieurs protéines impliquées dans le transport et le métabolisme d'un large éventail de composés (acides aminés, composés aromatiques, acides gras...) a été retrouvé chez *B. bronchiseptica*, alors que *B. pertussis* et *B. parapertussis* en sont dépourvus, probablement en raison d'une perte de ces gènes (Parkhill et al., 2003; Preston et al., 2004).

	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. bronchiseptica</i>	<i>B. avium</i>	<i>B. petrii</i>
Size (bp)	4,086,186	4,773,551	5,338,400	3,732,255	5,287,950
GC content (%)	67.72	68.10	68.07	61.58	65.48
Coding sequences	3,816	4,404	5,007	3,417	5,034
Pseudogenes	358	220	18	68	125
Coding density	91.6%	92.2%	92.0%	88.6%	90.6%
Average gene size (bp)	978	987	978	971	957
rRNA operons	3	3	3	3	3
tRNA	51	53	55	61	51
IS481	238	0	0	0	0
IS1001	0	22	0	0	1 (truncated)
IS1002	6	90	0	0	0
IS1663	17	0	0	0	6
IS3-family and others	0	0	0	0	98

**Tableau 2.** Caractéristiques générales des génomes de *B. petrii*, *B. avium*, *B. bronchiseptica*, *B. parapertussis*, et *B. pertussis* (Gross et al., 2008).

De plus, le séquençage de *B. petrii* a permis d'identifier 7 îlots génomiques propres à cette espèce, qui aurait été acquis par phénomène de transfert latéral. Il est intéressant de souligner que la plupart de ces îlots codent des fonctions métaboliques impliquées dans la dégradation de composés aromatiques ou dans la détoxification des métaux lourds. Par ailleurs, il existe 1825 séquences codantes ou CDSs, dont un grand nombre codent des fonctions métaboliques accessoires, qui sont propres à *B. petrii* et non retrouvées chez *B. bronchiseptica* ou *B. avium*, ce qui est en faveur d'une meilleure adaptation de cet organisme à différentes niches environnementales (Gross et al., 2008; Gross et al., 2010).

La réduction de la taille du génome constitue un argument de l'adaptation progressive de l'espèce environnementale, *B. petrii*, aux deux espèces *B. pertussis* et *B. parapertussis* pathogènes pour l'Homme. Cette observation de réduction de la taille du génome bactérien lors de l'évolution bactérienne vers une acquisition de pouvoir pathogène a été mise en évidence chez d'autres bactéries comme *Rickettsia*, *Mycoplasma*, *Chlamydia*, *Treponema* et *Borrelia*. Une des conséquences de la réduction du génome est l'incapacité de réacquérir la

multitude de gènes éliminés et de revenir à des modes de vie indépendants de l'hôte (Ochman and Moran, 2001).

*B. petrii* possède 125 pseudogènes dans son génome, soit moins que *B. pertussis* (358) et *B. parapertussis* (220), mais plus de *B. bronchiseptica* (18) et *B. avium* (68) (Tableau 2). Le nombre plus élevé de pseudogènes chez *B. pertussis* et *B. parapertussis* signe la perte de fonctions liées à la survenue d'altérations génétiques au niveau de ces gènes. L'analyse de la séquence des pseudogènes de ces deux espèces montre qu'ils étaient impliqués, à l'état fonctionnel, dans le transport membranaire, les fonctions métaboliques et la synthèse de protéines de surface (Parkhill et al., 2003). Ces fonctions n'ont pas été conservées, probablement parce qu'elles ne représentent pas un avantage sélectif lors de l'adaptation à l'hôte humain (von Wintzingerode et al., 2002). A terme, ces pseudogènes peuvent être soumis à une dégénérescence ou une excision du chromosome. Par ailleurs, le nombre réduit de pseudogènes chez *B. avium* est en lien avec une émergence probablement plus ancienne de cette espèce (Sebaihia et al., 2006).

*B. pertussis* et *B. parapertussis* portent également un nombre plus important de séquences d'insertion dans leurs génomes que les autres espèces. Ces IS sont très certainement impliquées dans les phénomènes de recombinaison et délétion de leurs génomes (Preston et al., 2004). En effet, les réarrangements chez *B. pertussis* et *B. parapertussis* sont le plus souvent bordés par des copies identiques des IS, suggérant que des recombinaisons entre ces IS constituent une source majeure de réarrangements (Parkhill et al., 2003).

## **2) Acquisition et expression différentielle des facteurs de virulence**

### **a. Adhésines**

L'expression différentielle des structures de surface, notamment des adhésines, pourrait avoir un rôle majeur dans l'adaptation à l'hôte. En effet, dans les années 1980, Tuomanen et coll. démontrèrent que *B. pertussis* et *B. parapertussis* adhéraient mieux aux cellules épithéliales ciliées humaines et que *B. bronchiseptica* avait une adhésion préférentielle aux cellules ciliées de mammifères testés (lapins, souris, hamster...) (Tuomanen et al., 1983), ce qui pourrait être en lien avec les différentes adhésines exprimées. L'étude des

adhésines est ainsi incontournable afin de comprendre l'adaptation à l'hôte en général pour les *Bordetella* sp., et à l'Homme en particulier pour les espèces strictement humaines.

### i. Protéines fimbriales

Les *fimbriae* (FIM) ou protéines fimbriales Fim2 et Fim3 rencontrées dans le genre *Bordetella* sont des adhésines présentes au niveau de la surface bactérienne. Elles correspondent à des polymères formés de l'assemblage de nombreuses sous unités Fim2 ou Fim3 selon la protéine fimbriale concernée, et associée avec une autre sous unité FimD. Deux autres protéines, FimB et FimC, sont nécessaires à l'assemblage de Fim2 et Fim3 (Guiso, 2015).

Les sous unités Fim2 et Fim3 sont exportées vers le périplasme où elles se lient à la protéine chaperone FimC. Ce complexe interagit par la suite avec la protéine FimD, ce qui entraîne la libération de FimC et l'appariement des sous unités Fim2 ou Fim3. FimD aurait un rôle également dans l'assemblage car son absence induit un avortement de la production des protéines fimbriales Fim2 et Fim3 (Guiso, 2015).

L'expression de Fim2 et Fim3, codées par les gènes *fim2* et *fim3*, est régulée par le système Bvg. De plus, elle est également soumise à une régulation appelée variation de phase: la délétion ou l'insertion d'éléments au niveau d'une séquence de résidus cytosines contenue au sein du promoteur affecte la transcription du gène, et influence le niveau d'expression des 2 protéines. Chez *B. pertussis*, 3 configurations sont possibles: soit une absence d'expression de Fim2 et Fim3, soit l'expression d'une seule d'entre elles, soit l'expression des deux simultanément (Guiso, 2015).

Les protéines fimbriales jouent à la fois un rôle dans **l'adhésion bactérienne**, mais ont aussi un rôle central dans **l'immunomodulation**.

Leurs propriétés adhésives au niveau des cellules épithéliales ciliées des tractus nasal et bronchique confèrent une résistance bactérienne à l'élimination par le tapis muco-ciliaire. L'adhésion aux cellules épithéliales ciliées relèvent des sous unités fimbriales majeures Fim2 et Fim3 (Mattoo and Cherry, 2005) (Mooi et al., 1992). Geuijen et *coll.* ont démontré la capacité des *fimbriae* à se lier, avec ou sans FimD, à de nombreux sucres présents dans le

tractus respiratoire des mammifères (sulfate d'héparane, sulfate de chondroïtine, sulfate de dextran) (Geuijen et al., 1996). Deux régions présentant des séquences similaires au domaine de liaison à l'héparine de la fibronectine (Geuijen et al., 1998) au sein de la sous unité Fim2 permettrait la liaison à l'héparine. De plus, FimD possède des propriétés adhésives, notamment envers les monocytes/macrophages *via* l'intégrine VLA-5 (Hazenbos et al., 1995). La fixation de FimD au niveau macrophagique entraîne l'activation de l'intégrine CR3, renforçant la capacité de cette dernière à lier l'hémagglutinine filamenteuse (FHA), qui est une autre adhésine bactérienne. Les *fimbriae* pourraient également jouer un rôle dans la formation de biofilm (Mattoo and Cherry, 2005).

Par ailleurs, les protéines fimbriales ont des propriétés immunomodulantes en induisant une réponse immunitaire lors de l'infection. La nature protectrice de la réponse anticorps en fait des composants de choix pour la stratégie vaccinale. Il a été par ailleurs démontré que les essais vaccinaux incluant les protéines fimbriales sont plus efficaces que ceux ne les incluant pas (Olin et al., 1997; Mattoo and Cherry, 2005).

Les *fimbriae* Fim2 et Fim3 sont retrouvés chez l'ensemble des *Bordetella* du complexe *bronchiseptica*, chez *B. avium* et chez *B. petrii*, mais leur présence n'a pas été étudiée pour *B. holmesii*, *B. hinzii*, *B. trematum* et *B. ansorpii* (Gross et al., 2010).

L'étude des génomes de *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. bronchiseptica* a permis d'identifier d'autres gènes qui seraient impliqués dans la synthèse de potentielles sous-unités fimbriales. *fimX* est un gène retrouvé chez les 3 espèces *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. bronchiseptica*, mais ne semble pas exprimé, ou seulement faiblement exprimé. *fim A* serait exprimé chez *B. bronchiseptica*. Ce gène est intact chez les isolats ovins de *B. parapertussis*, mais son expression n'a pas été étudiée. Il est présent chez les isolats humains de *B. parapertussis* et chez *B. pertussis*, mais ne semble pas exprimé en raison d'une mutation chez *B. parapertussis* et d'une délétion chez *B. pertussis*. *fimN* n'est retrouvé que chez *B. bronchiseptica* et *B. parapertussis*. Le gène est délété chez *B. pertussis* (Preston et al., 2004).

Cette étude montre que *B. bronchiseptica* semble posséder un plus large répertoire de protéines fimbriales par rapport aux deux autres espèces, ce qui pourrait contribuer à sa moindre spécificité d'hôte. Il n'y a pas de gènes retrouvés spécifiquement chez les deux

espèces strictement humaines *B. pertussis* et *B. parapertussis*. L'absence de FimA chez ces 2 espèces peut trouver une explication par une absence d'avantage à retenir cette protéine dans l'adaptation à l'hôte humain (Preston et al., 2004).

L'analyse du génome de *B. avium* a montré qu'il comportait 11 gènes de potentielles sous unités fimbriales, soit plus que les Bordetella "classiques". Parmi ces gènes, un seul est orthologue avec le gène *fimA*. De futures analyses sont nécessaires afin de voir si ces gènes sont exprimés et produits, et s'ils le sont, dans quelles conditions (Sebahia et al., 2006).

## ii. Hémagglutinine filamenteuse

L'hémagglutinine filamenteuse (FHA) est une protéine de 220 kDa présente à la surface bactérienne et libérée dans le milieu. Elle est synthétisée sous forme d'un précurseur FHAp de 367 kDa codé par le gène *fhaB*. La partie N-terminale de ce précurseur donne le FHA mature (Guiso, 2015).

La sécrétion de FHA requiert un système TPS (Two-partner Protein Secretion) faisant intervenir FHAp et une protéine de la membrane externe FHAC. La partie N-terminale de FHAC interagit avec FHAp dans le périplasme. FHAp subit une maturation par une protéase SphB1 située au niveau de la surface de la membrane bactérienne externe pour donner la protéine mature FHA. La partie C-terminale de FHAC permet la sécrétion de FHA *via* la formation de pores à travers la membrane externe. La partie C-terminale du précurseur FHAp reste ancrée dans la membrane, et la partie N-terminale formant la protéine mature est libérée dans le milieu (Coutte et al., 2003).

La transcription de *fhaB* est régulée par le système Bvg: elle est exprimée lors des phases Bvg<sup>+</sup> et Bvg<sup>i</sup> (cf VI- 3)). De plus, toute modification post traductionnelle de la protéase SphB1 a un retentissement sur la maturation de FHA. Son absence est associée à une moins bonne persistance de FHA dans le tractus respiratoire des souris (Coutte et al., 2003; Mattoo and Cherry, 2005).

La FHA est une **adhésine majeure**, ayant un rôle également dans l'**immunomodulation**. Plusieurs domaines sont impliqués dans les phénomènes d'adhésion. Le domaine RGD (Arg-Gly-Asp) permet un attachement aux monocytes/macrophages et aux

leucocytes (*via* l' intégrine LRI/IAP et CR3), et également aux cellules épithéliales bronchiques *via* le VLA-5. La liaison aux cellules épithéliales bronchiques *via* le VLA-5 induit une activation de NF- $\kappa$ B, qui elle même régule positivement la molécule d'adhésion intercellulaire ICAM-1, ayant pour conséquence une accumulation et un recrutement des lymphocytes au site de l'infection. Un domaine CRD (Carbohydrates Recognition Domain) assure la liaison au niveau de sucres (carbohydrates) sulphatés et de glycolipides des cellules épithéliales ciliées et non ciliées. Enfin, la FHA possède un site de liaison à l'héparine distinct de RGD et CRD responsable de phénomènes d'hémagglutination (Mattoo and Cherry, 2005; Guiso, 2015).

La liaison aux macrophages entraîne une inhibition de la synthèse de l'interleukine pro-inflammatoire IL12 *via* un mécanisme dépendant de l'IL10, ce qui aurait comme conséquence un retard au développement de l'immunité à médiation cellulaire Th1, favorisant la persistance bactérienne. La FHA, par ses propriétés adhésives, joue un rôle central dans la colonisation trachéale et du tractus respiratoire (Cotter et al., 1998; van den Berg et al., 1999), notamment par des phénomènes d'autoagglutination bactérienne, facilitant la multiplication et la persistance bactérienne. Le fait qu'elle soit en partie sécrétée peut paraître antithétique avec la définition d'une adhésine. Cependant, la sécrétion de FHA pourrait faciliter le détachement de certaines bactéries à partir de microcolonies, afin de promouvoir la propagation bactérienne. Par ailleurs, la FHA est hautement immunogène, et est retrouvée dans la composition de certains vaccins acellulaires.

La FHA est rencontrée chez toutes les espèces du complexe *bronchiseptica*. Elle a également été mise en évidence chez *B. holmesii*, *B. avium*, *B. petrii* qui sont des espèces capables d'entraîner des atteintes respiratoires. *B. holmesii* possède une FHA-like régulée par le système Bvg dont les domaines de liaison à l'héparine, aux carbohydrates et le motif RGD manquent. La FHA de *B. petrii* ne ressemble à celui des *Bordetella* du complexe *bronchiseptica* qu'au niveau de sa partie N-terminale. Aucune donnée n'est disponible concernant *B. hinzii*, *B. ansorpii* et *B. trematum* (Gross et al., 2010). Une analyse des génomes de *B. pertussis*, *B. parapertussis* (isolats humains), *B. bronchiseptica* et *B. avium* a révélé la présence de deux gènes additionnels, *fhaS* et *fhaL*, qui codent des protéines semblables à FHA (Parkhill et al., 2003; Sebahia et al., 2006) et dont l'implication en pathogénie n'est pas clairement définie. A noter, 6 gènes codant des protéines FHA-like n'ont été retrouvés que chez *B. avium* (Sebahia et al., 2006).

### iii. Pertactine

La pertactine (PRN) est une protéine de surface rencontrée chez les 3 espèces du complexe BBS. Elle appartient à la famille des autotransporteurs de type I sécrétés par un système de sécrétion de type V. Elle contient une région riche en prolines dont le nombre diffère d'une espèce à l'autre, ce qui a une influence sur le poids moléculaire de la PRN mature (68 kDa chez *B. bronchiseptica*, 69 kDa chez *B. pertussis* et 70 kDa chez *B. parapertussis*). Elle est synthétisée sous forme d'un précurseur de 93kDa codé par le gène *prn* qui, après deux clivages protéolytiques en N-terminal et C-terminal, donne la PRN mature. L'expression du gène *prn* est régulée positivement par le système Bvg (Mattoo and Cherry, 2005).

La partie N-terminale du précurseur de la PRN est responsable de l'exportation à travers la membrane interne jusqu'au périplasma en empruntant le système Sec et est ensuite clivée dans le périplasma. La partie C-terminale permet ensuite le passage à travers la membrane externe en formant un canal aqueux. La région de liaison entre les parties N-terminale et C-terminale dirige la translocation à travers le canal. Une fois à la surface, la partie C-terminale peut être clivée, et subsiste une liaison non covalente permettant l'attachement de la PRN mature à la membrane (Mattoo and Cherry, 2005).

Tout comme les deux adhésines précédemment décrites, la PRN joue un rôle dans les phénomènes d'**adhésion** et d'**immunomodulation**.

La PRN possède une séquence RGD (Arg-Gly-Asp) impliquée dans l'attachement bactérien grâce à des interactions protéines-protéines. Elle est dotée d'une capacité d'adhésion aux cellules CHO de hamster (Everest et al., 1996). Toutefois, son expression empêche l'invasion des cellules trachéales humaines par *B. pertussis in vitro*. Elle ne serait pas impliquée non plus dans la colonisation du tractus respiratoire *in vivo* chez la souris, ni dans la persistance de l'infection chez le rat (Roberts et al., 1991; Mattoo and Cherry, 2005).

Par ailleurs, elle possède deux régions immunodominantes appelés I et II, contenant respectivement des motifs répétés Gly-Gly-X-X-Pro et Pro-Gln-Pro. Il existe un polymorphisme de la région I chez *B. pertussis* et de la région II chez *B. bronchiseptica* (Guiso, 2015).

Les isolats cliniques de *B. pertussis* expriment différents types de PRN. Les différents types de PRN sont à l'origine d'une réponse anticorps qui diffère selon la PRN concernée, ce qui implique que les anticorps spécifiques d'un type de PRN ne réagissent pas avec les autres types. La PRN entre dans la composition de certains vaccins acellulaires.

Parmi les espèces du complexe *bronchiseptica*, la PRN aurait un rôle dans l'attachement et l'adhésion bactérienne. *B. avium*, *B. hinzii* et *B. petrii* ne possèdent pas de pertactine. Cette dernière n'a pas été à ce jour recherchée chez *B. holmesii*, *B. trematum* et *B. ansorpii* (Gerlach et al., 2001; Mattoo and Cherry, 2005).

#### **iv. Autres auto-transporteurs**

D'autres autotransporteurs ont été décrits: BrkA, TcfA, Vag8, Phg et SphB1. Tous ces autotransporteurs présentent des similitudes de la partie C-terminale et ont un ou plusieurs domaines RGD.

BrkA est une protéine de 73 kDa retrouvée au niveau de la surface bactérienne. Elle est synthétisée sous forme d'un précurseur donnant après deux clivages la protéine mature. L'expression de BrkA est régulée par le système Bvg. Deux fonctions principales sont associées à cet autotransporteur: une fonction d'adhérence aux cellules épithéliales de l'hôte, probablement en lien avec la présence de deux motifs RGD et une capacité à résister à l'effet bactéricide du sérum. Cette deuxième fonction est également liée à la protéine BrkB qui se situe elle dans la membrane cytoplasmique. BrkA et BrkB sont retrouvées chez *B. pertussis*, *B. parapertussis*, et certains isolats de *B. bronchiseptica* (Gerlach et al., 2001). BrkB est rencontrée chez *B. avium* et *B. petrii*. Aucune donnée concernant ces protéines n'est publiée concernant *B. holmesii*, *B. hinzii*, *B. trematum* et *B. ansorpii* (Fernandez and Weiss, 1994; Gross et al., 2010).

TcfA est une protéine de 68 kDa impliquée dans la liaison aux cellules trachéales chez la souris. Elle est retrouvée chez *B. pertussis* (Finn and Stevens, 1995). Vag8 et Phg sont des autotransporteurs dont le rôle en pathogénie n'est pas encore clairement élucidé (Finn and Amsbaugh, 1998; Middendorf et al., 2005). Vag8 est présent chez *B. pertussis*, *B. parapertussis* (isolats humains) et *B. bronchiseptica*. Enfin, SphB1 est un autotransporteur qui a un rôle dans la maturation de la FHA, comme décrit plus haut.

*B. bronchiseptica* posséderait dans son génome plus de gènes codant des auto-transporteurs (20) que *B. pertussis* (13), *B. parapertussis* (16) (Preston et al., 2004) et que *B. avium* (7) (Sebahia et al., 2006). Ces auto-transporteurs pourraient conférer à *B. bronchiseptica* une plus grande possibilité d'interactions avec l'hôte.

## b. Toxines

### i. Toxine pertussique

La toxine pertussique (TP) est une ADP-ribosyltransférase. Elle est composée de 2 sous unités A et B. La sous unité A constituée du polypeptide S1 possède l'activité enzymatique ADP-ribosyltransférase, responsable des interactions moléculaires dans la cellule hôte. La sous unité B est composée des polypeptides S2, S3, S4 et S5 dans le ratio 1:1:2:1 et constitue le domaine de liaison à la cellule hôte (Mattoo and Cherry, 2005). Les gènes de structure *ptx* (*ptxA* → *ptxE* et promoteur *ptxP*) codant les sous unités et les gènes *ptl* codant les protéines du système de sécrétion de type IV forment un opéron, qui est régulé par le système Bvg (Locht et al., 1986).

Après sécrétion à travers la membrane bactérienne externe grâce au système de sécrétion de type IV composé de 9 *Ptl* (*Pertussis toxin liberation*), la TP se lie aux récepteurs des cellules eucaryotes et pénètre par endocytose. L'activation de la sous unité A ou S1 entraîne le transfert d'un ADP ribose du NAD aux protéines G, ce qui les rend inactives. Plusieurs effets résultent de cette inhibition, notamment une hypersensibilité à l'histamine et une hypoglycémie par renforcement de la sécrétion d'insuline (Mattoo and Cherry, 2005)...

La TP est impliquée également dans trois autres phénomènes majeurs en pathologie. Elle est responsable d'une **hyperleucocytose** prédominant sur la lignée **lymphocytaire**, non liée à une augmentation de production mais à un relargage à partir des sites extravasculaires (Morse, 1977; Mattoo and Cherry, 2005). De plus, elle inhibe l'expression des gènes pour les chimiokines des cellules résidentes, ce qui a pour effet **l'inhibition de la migration des PNN, des macrophages et des lymphocytes** sur le site de l'infection (Kirimanjeswara et al., 2005; Andreasen and Carbonetti, 2008). La TP a par ailleurs des **propriétés adjuvantes** à l'origine d'une hypersensibilisation aux autres antigènes vaccinaux (Carbonetti, 2010).

La TP est synthétisée et sécrétée uniquement chez *B. pertussis*. Les loci *ptx-ptl* codant les protéines fonctionnelles et le système de sécrétion sont également présents chez *B. parapertussis* et *B. bronchiseptica*, mais non transcrits en raison de la présence de mutations dans les régions promotrices (Arico and Rappuoli, 1987). Il n'existe pas de différences majeures entre *B. pertussis* et *B. parapertussis* imputable à la TP en dehors de l'hyperlymphocytose biologique. Les infections à *B. pertussis* sembleraient toutefois entraîner une morbidité plus importante (durée et sévérité), notamment chez les nouveaux nés et les jeunes enfants chez qui l'hyperleucocytose peut être majeure. La TP n'aurait pas un rôle clairement établi concernant le caractère paroxystique de la toux, les reprises inspiratoires bruyantes ni les vomissements caractéristiques de la coqueluche (Hewlett, 1999; Mattoo and Cherry, 2005). Initialement décrite comme composante majeure de la coqueluche, son rôle dans l'infection, la maladie et sa transmission doit être étoffé.

## ii. Adényl Cyclase-Hémolysine

L'Adényl Cyclase-Hémolysine (AC-Hly) est composée de deux domaines reliés entre eux par une région hydrophobe. Le domaine N-terminal de 400 aa porte l'activité catalytique adényl cyclase avec un site de liaison à la calmoduline. Le domaine C-terminal de 1300 aa, homologue à celui des toxines de type RTX (repeats-in-toxin) permet la translocation du site catalytique au sein de la cellule eucaryote et possède une activité hémolytique par formation de pores. L'acylation par la protéine *cyaC* sur un résidu de Lysine (Lysine 983 dans le cas de *B. pertussis*) est essentielle à l'activation du domaine hémolysine de la protéine et conditionne l'activité biologique. L'expression de AC-Hly est régulée par le système Bvg (Mattoo and Cherry, 2005; Guiso, 2015).

L'AC-Hly reste généralement à la surface bactérienne, mais elle peut être également libérée grâce à un système de sécrétion de type I composé de 3 protéines *cyaB*, *cyaD*, et *cyaE*. Le gène *cyaA* codant l'AC-Hly (ou *cyaA*) et les gènes *cyaBDE* codant les protéines *cyaB*, *cyaD*, et *cyaE* composant le système de sécrétion de type I, sont localisés sur un même opéron *cyaABDE*. Le gène codant la protéine *cyaC* est adjacent à l'opéron *cyaABDE* (Mattoo and Cherry, 2005).

L'activité cytotoxique par formation de pores au niveau de la cellule cible est assurée par des oligomères de l'AC-Hly. Le rapprochement entre la bactérie et la cellule cible,

ainsi que la sécrétion de la toxine sont nécessaires à l'activité cytotoxique (Vojtova-Vodolanova et al., 2009). L'AC-Hly sous forme monomérique médie la translocation du domaine adényl cyclase (AC) à travers la membrane cellulaire de l'hôte. Après liaison au récepteur cellulaire CR3 (intégrine) ou CD11b/CD18 et internalisation par un transport vésiculaire médié par CR3, le domaine AC se lie à la calmoduline. Il en résulte une production de quantité supraphysiologique d'AMPc à partir de l'ATP responsable de nombreux effets cellulaires. La déplétion en ATP et l'influx de calcium durant la translocation serait responsable notamment des **effets cytotoxiques par apoptose observés sur les macrophages** (Carbonetti, 2010).

Par ailleurs, l'AC-Hly agit en **modulant la réponse de l'hôte** (inhibition de la phagocytose par les PNN, induction de l'apoptose des macrophages alvéolaires *in vivo* et *in vitro*, diminution de la production de cytokines proinflammatoires), ce qui a pour finalité un échappement bactérien aux défenses de l'hôte (Khelef and Guiso, 1995; Gueirard et al., 1998a; Carbonetti, 2010).

L'AC-Hly est donc une toxine clé, notamment dans les infections létales, qui agit de manière complémentaire à la toxine pertussique (Weiss et al., 1984). Toutes les espèces de *Bordetella* dont l'hôte principal est un mammifère, à savoir *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. bronchiseptica*, sont aptes à la produire et la sécréter. *B. hinzii* semble capable de produire l'AC-Hly avec une déficience de liaison à la calmoduline, ainsi qu'une activité adényl cyclase réduite, en comparaison avec *B. pertussis*. En raison d'une absence de transcription du gène *cyaC* codant la protéine *cyaC*, l'AC-Hly ne serait pas activée par acylation chez *B. hinzii* et donc inapte à tout effet biologique. Cette observation est en adéquation avec l'absence d'activité hémolytique de *B. hinzii* en culture. L'AC-Hly n'est pas présente chez *B. petrii*, *B. avium* et *B. holmesii* et n'a pas à ce jour été recherchée chez *B. trematum* et *B. ansorpii* (Donato et al., 2005; Gross et al., 2010; Pittet et al., 2014). L'AC-Hly est un facteur de virulence qui a donc pu être acquis au cours de l'évolution par un ancêtre commun aux *Bordetella* infectant les mammifères. La présence de l'AC-Hly chez *B. hinzii*, bien que non fonctionnelle par défaut d'activation, est plus anecdotique car *B. hinzii* est phylogénétiquement plus proche de *B. avium* que des *Bordetella* du complexe *bronchiseptica*.

### iii. Toxine dermonécrotique

La toxine dermonécrotique (TDN) est une toxine thermolabile de nature polypeptidique. Elle correspond à une toxine de type A-B avec un domaine de liaison au récepteur en N-terminal composé de 54 aa et un domaine enzymatique en C-terminal composé de 300 aa. Elle est rencontrée au niveau du cytoplasme bactérien et n'est libérée qu'après lyse bactérienne. Son expression est régulée par le système Bvg (Mattoo and Cherry, 2005; Guiso, 2015).

Après liaison au récepteur (non identifié à ce jour), la TDN est internalisée par endocytose dépendante de la dynamine. Elle subit par la suite une modification protéolytique indispensable à son activité cellulaire (Mattoo and Cherry, 2005).

La TDN a pour cible les GTPases Rho, ce qui porte atteinte à la différenciation et la prolifération des clones ostéoblastiques de type MC3T3 *in vitro* (Horiguchi et al., 1991; Horiguchi et al., 1993; Horiguchi et al., 1995). Elle stimule également la réplication et la synthèse de l'ADN.

La TDN est responsable de **nécrose** localisée chez la souris après injection intradermique et est **létale après injection IV** (Mattoo and Cherry, 2005). Chez *B. bronchiseptica*, les isolats possédant une TDN d'activité diminuée sont associés à une moindre atrophie des cornets nasaux chez le porc (Roop et al., 1987). Chez *B. pertussis*, il n'a pas été observé de différences significatives en termes de virulence entre isolats producteurs et déficients en TDN (Weiss and Goodwin, 1989). Bien que plusieurs effets cellulaires soient mis en évidence, il n'a pas été démontré dans quelle mesure et comment ils contribueraient à la pathogenèse de la TDN.

Elle est produite par *B. pertussis*, *B. parapertussis*, et *B. avium* et certains isolats de *B. bronchiseptica*. Elle est par contre absente chez *B. petrii*. Sa présence chez *B. holmesii*, *B. hinzii*, *B. trematum*, *B. ansorpii* n'a à ce jour pas été explorée (Gross et al., 2010).

#### iv. Cytotoxine trachéale

La cytotoxine trachéale (CTT) est un produit de synthèse intermédiaire lors de la formation du peptidoglycane. Elle est produite par l'ensemble des bactéries gram négative. Chez *E. coli*, cette protéine peut être internalisée dans le cytosol grâce à une protéine cytoplasmique membranaire AmpG en vue d'être recyclée. Chez *Bordetella* sp., elle est libérée dans le milieu extérieur car la protéine AmpG n'est pas fonctionnelle. Son expression est constitutive (Mattoo and Cherry, 2005; Guiso, 2015).

Plusieurs effets cellulaires ont été mis en évidence sur cultures de trachée et cellules épithéliales trachéales de hamster tels que des dommages mitochondriaux, la perturbation des jonctions serrées, et une inhibition de la synthèse d'ADN dose dépendante (Goldman et al., 1982). Ces effets ont également été retrouvés sur des échantillons de biopsie épithéliale nasale chez l'Homme (Wilson et al., 1991).

*In vitro*, la CTT stimule la production d'IL-1 $\alpha$  dans les cellules HTE de hamsters ce qui a pour effet une augmentation de la production de radicaux d'oxydes nitriques NO• responsable de la **destruction des cellules ciliées**. *In vivo*, la CTT stimulerait la production de NO• par les cellules non ciliées sécrétrices de mucus. L'accumulation de NO• aurait un effet délétère sur les cellules ciliées environnantes, plus susceptibles aux effets du NO•. La CTT agit de manière synergique avec le LPS pour stimuler la production de NO• (Flak and Goldman, 1999; Flak et al., 2000; Mattoo and Cherry, 2005).

La CTT est produite chez *B. pertussis*, *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica* et *B. avium* (Guiso, 2015). *B. petrii* serait capable de produire de faibles quantités de CTT (Gross et al., 2008). Aucune exploration n'a été réalisée concernant les autres espèces (Gerlach et al., 2001).

## v. Système de sécrétion de type III et protéine effectrice Bte A

Le système de sécrétion de type III (SSTT) est un système complexe présent chez de nombreux pathogènes bactériens chez l'Homme (*Bordetella*, *Yersinia*, *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* entéropathogènes), mais aussi chez des pathogènes de plantes (*Erwinia*, *Pseudomonas syringae*) (Mattoo and Cherry, 2005). Il est constitué d'un système de sécrétion capable de traverser les membranes bactériennes cytoplasmique et externe, de protéines de translocation qui forment des pores à travers la membrane de la cellule eucaryote ainsi qu'une ATPase spécifique requise pour l'assemblage des éléments du système de sécrétion (Kimbrough and Miller, 2002). Le support génétique codant pour l'ensemble de ces éléments correspond à une vingtaine de gènes. Le système Bvg exerce un contrôle sur le SSTT directement ou indirectement par l'activation d'un gène *btrS* (Mattoo and Cherry, 2005).

Chez les bactéries à gram négatif, le SSTT permet la translocation de protéines effectrices bactériennes à l'intérieur du cytoplasme de la cellule eucaryote grâce à son système d'injection. Les protéines effectrices interagissent ensuite avec les cascades de signalisation et les processus cellulaires de la cellule eucaryote (déphosphorylation de protéines, activation de kinases) ce qui concourt à la pathogénie bactérienne (Mattoo and Cherry, 2005).

Chez les *Bordetella*, BteA est la protéine effectrice du SSTT. Elle est codée par le gène *bteA* et son expression s'effectue sous le contrôle du système Bvg (Mattoo and Cherry, 2005). Les isolats de *B. bronchiseptica* produisant BteA sont cytotoxiques sur plusieurs lignées cellulaires, notamment sur les macrophages (Yuk et al., 1998).

Le SSTT et sa protéine effectrice BteA ont d'abord été décrits chez *B. bronchiseptica* (Yuk et al., 1998). Les gènes codant le SSTT et sa protéine effectrice BteA sont également présents chez *B. pertussis* et *B. parapertussis* chez qui ils sont transcrits et régulés de façon similaire à *B. bronchiseptica* (Mattoo et al., 2004). Ils sont absents chez *B. avium* et *B. petrii* et leur présence n'a à ce jour pas été explorée chez les autres espèces (*B. hinzii*, *B. holmesii*, *B. ansorpii* et *B. trematum*). Selon une étude récente, seule *B. bronchiseptica* serait apte à produire BteA *in vitro* et *in vivo*. En effet, les isolats testés de *B. pertussis* étaient capables de produire BteA seulement *in vitro*, et ceux de *B. parapertussis* étaient inaptes à la production de BteA *in vitro* et *in vivo* (Hegerle et al., 2013).

BteA apparait comme une protéine effectrice essentielle chez *B. bronchiseptica*. Les mutants déficients en SSTT chez *B. bronchiseptica* présente une moindre capacité à coloniser la trachée des souris et à induire l'apoptose des macrophages (Yuk et al., 2000).

Chez *B. parapertussis*, BteA n'aurait pas un rôle fondamental dans la pathogénie de cette espèce puisque sa production a été perdue au cours de l'adaptation à l'espèce humaine. Chez *B. pertussis*, la persistance de la production de BteA *in vitro* semble plus anecdotique. Soit des fonctions encore non élucidées de cette protéine expliqueraient qu'elle ait été maintenue par pression de sélection au sein de cette espèce, soit elle ne correspond qu'à une étape de transition chez une espèce en cours d'évolution et amenée à perdre cette fonction. L'état actuel des connaissances sur les fonctions de BteA ne permet pour l'instant pas de trancher s'il s'agit un facteur de virulence réel chez *B. pertussis* (Guiso, 2015).

## vi. Lipopolysaccharide

Le lipopolysaccharide (LPS) est un composant essentiel de la membrane externe des bactéries à gram négatif. Il est composé classiquement de 3 parties:

- un fragment hydrophobe appelé **lipide A**,
- un noyau central ou "**core**" de nature oligosaccharidique contenant un acide 2-keto-deoxyoctulosonique,
- de chaînes latérales de nature polysaccharidique composées d'unités oligosaccharidiques répétées et correspondant aux **Antigènes O** (Ag O).

C'est une endotoxine aux propriétés pyrogène, mitogène et toxique. Elle induit au sein de la population macrophagique l'activation et la production de TNF (Mattoo and Cherry, 2005).

Le LPS constitué de ces trois éléments correspond au LPS type muqueux retrouvé chez certaines entérobactéries.

Chez *B. pertussis*, la perte de l'Ag O est à l'origine d'un LPS type rugueux. La bactérie produit deux types de LPS appelés LPS bande A et LPS bande B. Le LPS bande B est constitué du lipide A et d'un core oligosaccharidique à neuf carbohydrates. Le LPS bande A

correspond au LPS bande B auquel se greffe un trisaccharide additionnel (Mattoo and Cherry, 2005; Guiso, 2015).

Chez *B. bronchiseptica*, le LPS comprend un Ag O composé d'un polymère avec un seul sucre répété (acide 2,3-dideoxy-di-*N*-acetylgalactosaminuronique) et les bandes A et B (Mattoo and Cherry, 2005). Elle peut perdre cet Ag au cours d'une infection persistante (Gueirard, 1998b).

Chez *B. parapertussis* (isolats humains), l'Ag O est semblable à celui de *B. bronchiseptica*, mais la bande A est absente et la bande B est tronquée. Chez *B. parapertussis* (isolats ovins), l'Ag O est manquant, et les bandes A et B sont distinctes de celles retrouvées au sein des autres espèces de *Bordetella* (Mattoo and Cherry, 2005).

Le locus *wlb*, bien conservé au sein des différentes espèces du complexe *bronchiseptica*, constitué de 12 gènes *wlbA* à *wlbL*, est requis pour la synthèse du LPS bande A et l'assemblage du trisaccharide. Le locus *wbm*, adjacent au locus *wlb*, et présent chez *B. bronchiseptica* et *B. parapertussis* (isolats humains) est requis pour l'assemblage de l'Ag O.

Quelle que soit sa structure, il a été démontré que le LPS avait un rôle majeur dans la **colonisation du tractus respiratoire** chez la souris pour les espèces *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. bronchiseptica* (Harvill et al., 2000). Il aurait également un rôle dans la **destruction de l'épithélium trachéal**, en agissant en synergie avec la CTT (Flak et al., 2000). Les différentes fonctions que pourraient jouer le LPS en rapport aux différentes structures retrouvées chez les espèces du complexe BBS sont mal connues. Il existe probablement un lien étroit entre structure et fonctions au sein d'une même espèce ou inter-espèce. En effet, on sait que la structure du LPS chez *B. bronchiseptica* est contrôlée par le système de régulation Bvg. La palmitoylation du lipide A médiée par la protéine PagP (gène *pagP*) chez *B. bronchiseptica*, elle-même régulée par le système Bvg, aurait une influence pour la persistance de la bactérie au sein du tractus respiratoire. Le gène *pagP* est retrouvé chez *B. pertussis* et *B. parapertussis* (isolats humains) mais la protéine n'est pas exprimée chez *B. pertussis* en raison d'une mutation dans la région promotrice du gène. De plus, l'Ag O semble conférer chez *B. bronchiseptica* une meilleure résistance aux effets bactéricides du sérum, alors que cette fonction est certainement assurée par d'autres systèmes chez

*B. pertussis*, notamment le système BrkA, car elle ne possède pas l'Ag O (Harvill et al., 2000; Mattoo and Cherry, 2005).

Chez *B. avium*, le LPS revêt une importance particulière car est impliqué notamment dans la colonisation trachéale et la résistance à l'effet bactéricide du sérum. Le locus *wbm* nécessaire à la synthèse de l'Ag O contient moins de gènes que celui de *B. bronchiseptica*, ce qui pourrait indiquer qu'il existe d'autres voies de synthèse aboutissant à l'Ag O chez *B. avium* (Sebahia et al., 2006).

Chez les autres espèces, la structure et la fonction du LPS restent à élucider.

### **c. Autres composantes bactériennes pouvant jouer un rôle dans la virulence**

De récentes études rapportent la présence d'un gène codant une capsule chez *B. pertussis*, *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica* et *B. avium*. Sa production serait contrôlée par le système Bvg (Preston et al., 2004; Sebahia et al., 2006). Bien qu'un opéron pour la biosynthèse de la capsule ait été mis en évidence par l'étude du génome, la capsule ne s'exprime pas chez *B. pertussis* lors des conditions standards de culture au laboratoire. Un faible niveau d'expression a pu être mis en évidence en présence de MgSO<sub>4</sub>. Les conditions requises pour son expression restent donc à déterminer (Locht et al., 2001). L'analyse du génome a permis de déterminer que le gène de la capsule était intact chez *B. bronchiseptica* mais muté chez *B. pertussis* et *B. parapertussis*, ce qui laisse présager qu'elle pourrait avoir un rôle plus important pour la survie dans l'environnement (Preston et al., 2004; Sebahia et al., 2006). L'hypothèse de la présence d'une capsule chez *B. holmesii* est également avancée. Elle concorderait avec le fait que cette bactérie est retrouvée dans de nombreux cas chez des sujets splénectomisés (Barrado et al., 2011).

De plus, un nouveau gène codant un produit homologue à l'intimine de *E. coli* a été mis en évidence récemment chez *B. pertussis*. L'intimine est responsable chez *E. coli* entéropathogène de lésions d'attachement-effacement. Le rôle de son homologue chez *B. pertussis* reste à déterminer (Locht et al., 2001).

D'autre part, *B. pertussis* produit un sidérophore alcaligine permettant de récupérer le fer et de l'amener à la surface bactérienne. L'internalisation du fer requiert un système TonB/ExbBD. Les mutants déficients en TonB présentent une moins bonne aptitude à coloniser le tractus respiratoire des souris. La récupération du fer est importante pour la virulence de *B. pertussis*, contrairement à la synthèse de sidérophores, ce qui laisse présumer que la bactérie possède d'autres moyens pour capter le fer. Les récepteurs de sidérophores, notamment de l'alcaligine sembleraient plus nombreux chez *B. bronchiseptica*, comparativement à *B. pertussis* et *B. parapertussis* (Preston et al., 2004). Ils sont majoritairement soumis à une régulation dépendante du fer. Toutefois, cette hypothèse a été récemment remise en question par la découverte de nouveaux sidérophores, dont certains pourraient être régulés par le système Bvg (Locht et al., 2001). *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica* et *B. holmesii* possèdent également les gènes requis pour la biosynthèse et le transport du sidérophore alcaligine (Preston et al., 2004; Gross et al., 2010).

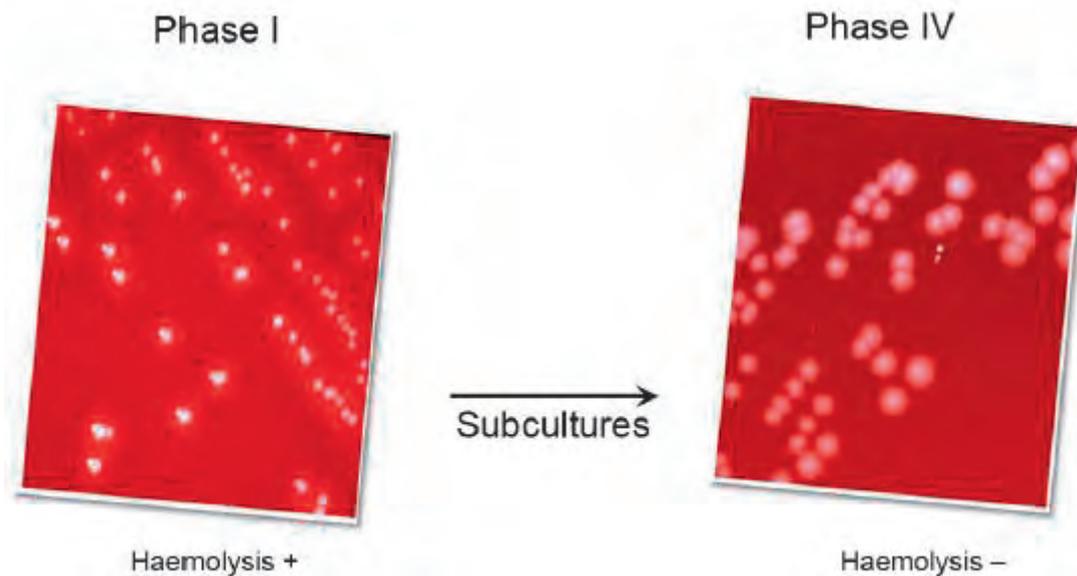
### **3) Le système de régulation BvgAS: système clé dans l'évolution du genre *Bordetella***

Le système de régulation BvgAS (ou Bvg) a été mis en évidence initialement chez *B. pertussis* par Bordet et Gengou, qui observèrent une modification de l'aspect des colonies bactériennes après plusieurs subcultures. Ces modifications correspondent à une variation dans l'expression des gènes orchestrée par le système de régulation Bvg (codé par le gène *bvgAS*).

Le système de régulation fait intervenir deux protéines régulatrices BvgA et BvgS. BvgS (pour Bvg Sensor) est une protéine de type histidine kinase composée de plusieurs domaines (un domaine transmetteur, un domaine receveur et un domaine HPT) qui, après auto-phosphorylation, est responsable du transfert du groupement phosphate à la protéine BvgA (pour Bvg Activator). BvgA, une fois activée par phénomène de phosphorylation, est à la fois un activateur positif de la transcription des gènes *vag* (*virulence activated gene*) codant les adhésines et les toxines, mais aussi un répresseur de la transcription des gènes *vrg* (*virulence repressed gene*) par l'intermédiaire du répresseur BvgR (Guiso, 2015).

Le système Bvg est impliqué dans le **phénomène des phases** décrit au sein du genre *Bordetella*. Le phénomène des phases représente la capacité des Bordetelles à se présenter

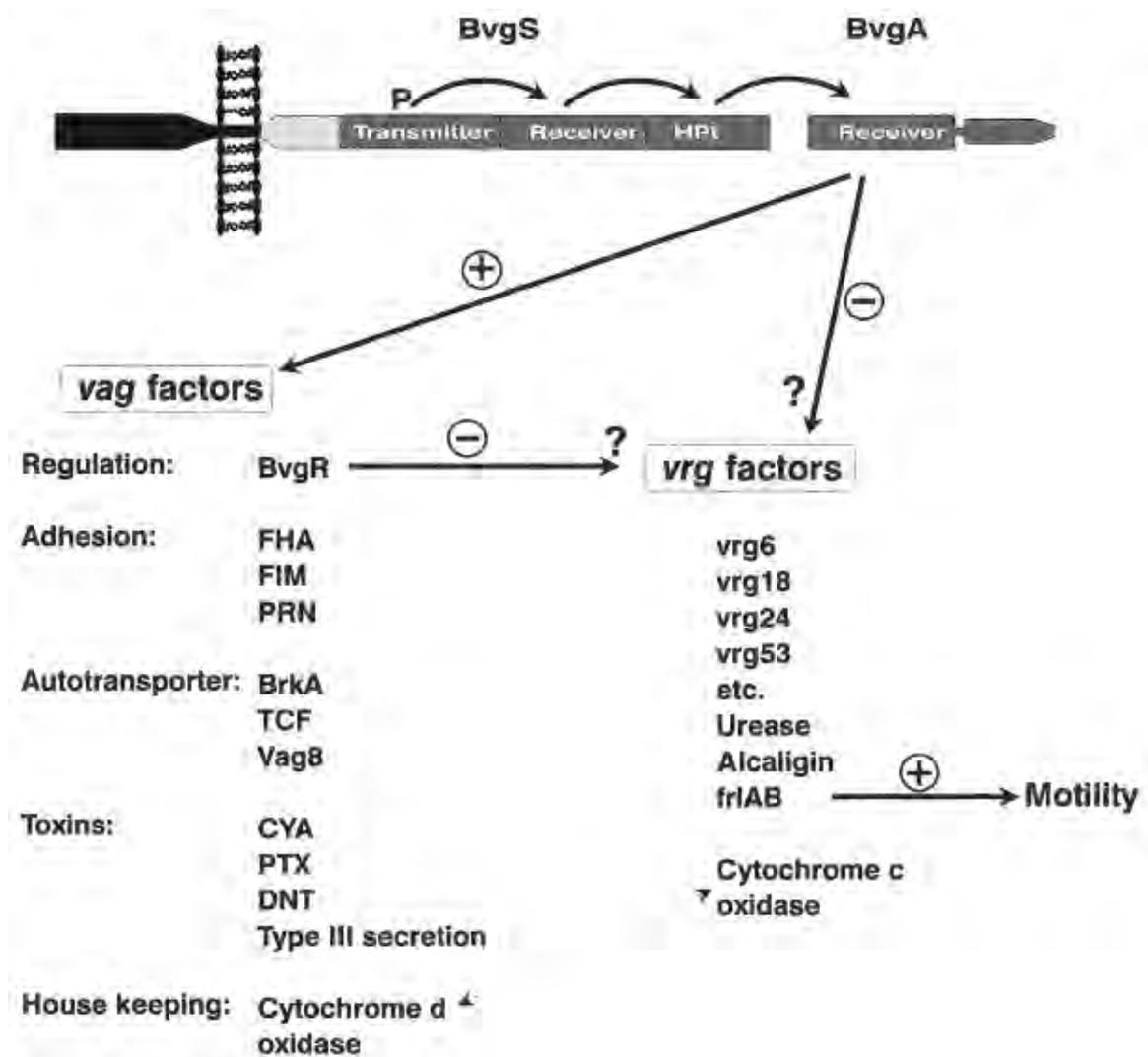
sous plusieurs phases correspondant à des modifications de leurs caractères cultureux (aspect des colonies, taille des bacilles, hémolyse, résistance au pouvoir bactéricide du sérum, mobilité, etc.) (Figure 11). Ces phases peuvent être liées à deux mécanismes: soit une modulation antigénique, soit une variation de phase.



**Figure 11.** Changements phénotypiques de *B. pertussis* après plusieurs subcultures sur milieu BGS (Guiso, 2015).

La **modulation antigénique** correspond au passage réversible de la phase I "virulente" vers les phases intermédiaires II et III pour atteindre la phase IV "avirulente". Cette modulation antigénique correspond à une inhibition de l'expression des gènes *vag* en réponse à des signaux extérieurs tels qu'une température inférieure à 26°C, l'acide nicotinique, les ions  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{ClO}_4^-$ , la concentration saline, les acides gras... En l'absence de ces signaux extérieurs ou à 37°C, la bactérie se trouve en phase I ou  $\text{Bvg}^+$ , durant laquelle les gènes *vag* codant les facteurs de virulence sont exprimés. Ces gènes incluent ceux codant la TP, l'AC-Hly, la TDN, le SSTT, les FIM, la FHA, la PRN, BrkA et aussi *vag8*. De plus, lors de la phase I, le système Bvg active l'expression d'un répresseur BvgR qui inhibe l'expression des gènes *vrg*. Les bactéries en phase IV ou phase  $\text{Bvg}^-$ , sous l'influence des facteurs extérieurs, sont avirulentes: elles n'expriment pas les gènes *vag* mais expriment les gènes *vrg*, qui sont alors dérèprimés. Les phases II et III sont des phases intermédiaires également identifiées  $\text{Bvg}^i$  durant lesquelles les gènes *fhaB* et *bipA* sont exprimés, mais le locus *ptx*, le locus *cya* et les gènes *vrg* ne sont pas exprimés (Figure 12). Ce phénomène est réversible: le niveau de synthèse des différentes protéines est restauré lorsque les signaux modulateurs sont éliminés du milieu ou des conditions de culture (Locht et al., 2001; Le Coustumier, 2003; Guiso, 2015).

La **variation de phase** correspond aux mêmes modifications que la modulation antigénique mais le passage de la phase I à la phase IV est dans ce cas un processus quasi irréversible. Cette variation de phase s'explique par la survenue de mutations et/ou délétions inactivant les protéines régulatrices BvgS ou BvgA. Ces mutations stoppent l'expression des facteurs de virulence (Locht et al., 2001; Le Coustumier, 2003; Mattoo and Cherry, 2005; Guiso, 2015).

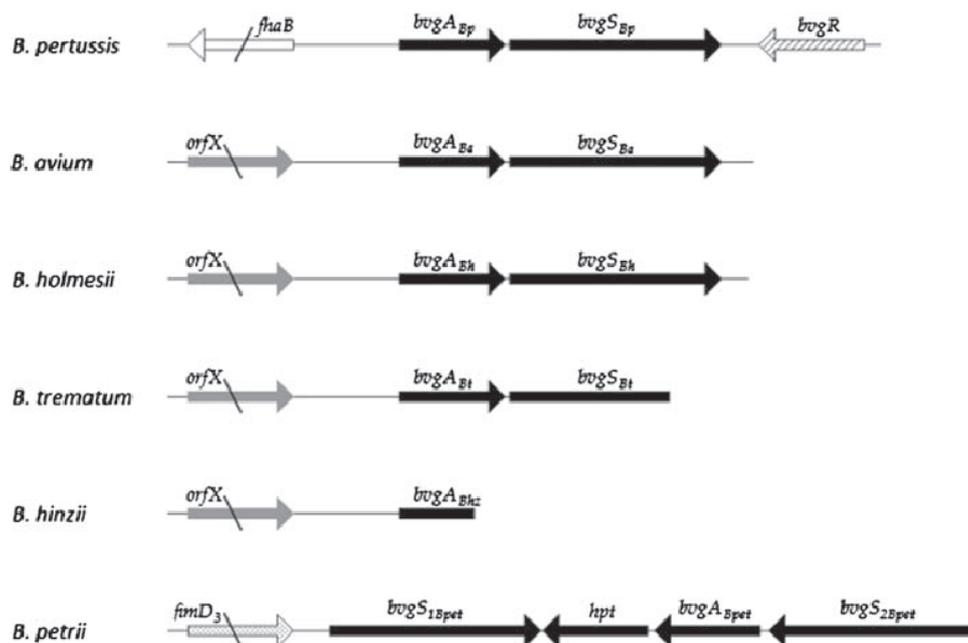


**Figure 12.** Représentation schématique du système BvgAS et des principaux facteurs régulés positivement et négativement (von Wintzingerode et al., 2002).

Le système Bvg a été mis en évidence chez toutes les espèces de *Bordetella*. Les trois espèces du complexe BBS possèdent un système de régulation Bvg similaire.

Le système Bvg des autres Bordetelles (en excluant *B. ansorpii* et *B. petrii*) présente un environnement génétique différent (Figure 13). En effet, un gène *orfX*, codant un potentiel régulateur, a été détecté à une distance d'environ 400 pb en amont du gène *bvgA* dans le même

sens de la transcription, tandis que pour les membres du complexe BBS, c'est le gène codant la FHA (*fhaB*) qui est situé en amont de *bvgA*. Le gène *bvgR* n'est par contre pas retrouvé chez *B. holmesii* et *B. avium*, comparativement aux *Bordetella* "classiques". Il existe un faible degré de similarité entre les séquences des gènes *bvgAS* du complexe *bronchiseptica* et ceux de *B. avium* et *B. holmesii*. Toutefois, la séquence d'acides aminés déduite est relativement conservée entre ces espèces (Parkhill et al., 2003; Spears et al., 2003; Gerlach et al., 2004). Gerlach et coll. ont démontré que les domaines de signalisation cytoplasmique de la protéine BvgS de *B. holmesii* étaient interchangeable avec ceux de *B. pertussis*, mais les domaines recevant les signaux extérieurs étaient différents. De plus, malgré une forte homologie de séquences entre leurs protéines BvgA, la reconnaissance du promoteur par les protéines régulatrices diffère. Les séquences des gènes *bvgAS* de *B. hinzii* et *B. trematum* ne sont que partiellement connues (Gerlach et al., 2004). Enfin, le système Bvg de *B. petrii* présente quelques différences par rapport à celui des autres *Bordetella*. La protéine BvgA est très semblable à celles des *Bordetella* "classiques", mais BvgS a une structure plus complexe par rapport à celle rencontrée dans les autres espèces. Elle est composée en réalité de deux histidine kinases BvgS1 (contenant les domaines PAS, un domaine transmetteur et un domaine receveur) et BvgS2 (composé d'un domaine transmetteur et un domaine receveur). Le domaine HPt, compris dans BvgS pour les autres *Bordetella*, est ici indépendant. Cette structure complexe s'est probablement optimisée au cours de l'évolution, avec la perte d'une histidine kinase, et l'incorporation du domaine HPt au sein de BvgS (Gross et al., 2008).



**Figure 13.** Présentation schématique du locus *bvgAS* et son environnement génétique chez différentes espèces du genre *Bordetella* (Gross et al., 2010).

L'analyse de l'expression des gènes durant les phases Bvg<sup>+</sup>, Bvg<sup>i</sup> et Bvg<sup>-</sup> a permis de mettre en évidence quatre classes de gènes: ceux qui sont exprimés seulement durant la phase Bvg<sup>+</sup> (ex: *cya*), ceux qui sont exprimés à la fois durant la phase Bvg<sup>+</sup> et la phase Bvg<sup>i</sup> (ex: *fhaB*, *bvgAS*), ceux qui ne sont exprimés que durant la phase Bvg<sup>i</sup> (ex: *bipA*) et ceux qui ne sont exprimés que durant la phase Bvg<sup>-</sup> (ex: *flaA*) (Locht et al., 2001). Cette observation est très importante afin de comprendre l'aptitude de certaines espèces de *Bordetella* à s'adapter à différentes niches écologiques et à survivre dans l'environnement.

Cummings et coll. ont à ce titre effectué une étude comparative entre *B. pertussis* et *B. bronchiseptica* afin de comprendre les différences engendrées en terme de profil d'expression des gènes lié à la régulation par le système Bvg. Durant la phase Bvg<sup>+</sup>, le profil était relativement similaire entre *B. pertussis* et *B. bronchiseptica*, avec une forte distribution des protéines intervenant dans le transport et des protéines exprimées à la surface bactérienne. Les gènes codant les FIM, la FHA, la PRN, l'AC-Hly, le SSTT et huit autotransporteurs étaient exprimés chez les deux espèces. Le gène de la toxine pertussique TP n'était exprimé que chez *B. pertussis*, en lien avec une inactivation du gène chez *B. bronchiseptica*. Un plus grand nombre de gènes codant des protéines et enzymes était activé chez *B. bronchiseptica*, pouvant expliquer une meilleure résistance au stress environnemental en phase Bvg<sup>+</sup> chez cette espèce. Durant la phase Bvg<sup>-</sup>, il existait un plus grand nombre de gènes activés chez *B. bronchiseptica* comparativement à *B. pertussis*. Ces gènes concernaient le chimiotactisme et la mobilité, mais également deux autotransporteurs et deux protéines d'acquisition du fer. *A contrario*, cinq gènes régulés positivement chez *B. pertussis* impliqués dans la synthèse d'une capsule étaient retrouvés chez *B. pertussis* uniquement. Le gène *wlb* requis pour la synthèse du LPS était présent en phase Bvg<sup>-</sup> chez les deux espèces (Cummings et al., 2006).

La régulation par le système Bvg impacte également les gènes impliqués dans les voies métaboliques. En phase Bvg<sup>-</sup>, un plus grand nombre de gènes impliqués dans les voies métaboliques était activé chez *B. bronchiseptica*. Ces gènes concernaient entre autres le métabolisme du carbone, les fonctions de transport, une accélération du cycle de l'urée avec surexpression du gène codant l'uréase. Ces divergences observées avec *B. pertussis* sont en accord avec l'incapacité de *B. pertussis* à survivre dans un environnement avec un apport en nutriments limité. De façon similaire à *B. bronchiseptica*, plusieurs gènes de *B. petrii* dont ceux impliqués dans la mobilité et le métabolisme énergétique sont sous le contrôle du système Bvg chez cette bactérie (Gross et al., 2010).

## 4) Impact de la vaccination coquelucheuse

### a. Facteur de micro-évolution chez *B. pertussis*?

Les vaccins coquelucheux à germes entiers inactivés (ou Ce) visant à conférer une immunité protectrice contre *B. pertussis*, le principal agent de la coqueluche, ont été développés dans les années 1930-1940 puis commercialisés peu après. La fabrication peu reproductible de ce type de vaccins, ainsi que les effets indésirables qui leur étaient imputables, ont conduit au développement de vaccins coquelucheux acellulaires (ou Ca) introduits dans les années 1980. Les vaccins coquelucheux acellulaires contiennent tous de la TP inactivée, seule ou additionnée de FHA, de FHA et PRN ou de FHA, PRN et FIM. Ces vaccins sont mieux tolérés que les vaccins Ce (Hegerle and Guiso, 2013). Malgré un grand degré d'homologie entre les espèces *B. pertussis* et *B. parapertussis*, les vaccins Ce et Ca ne confèrent pas d'immunité croisée envers *B. parapertussis* car ces deux espèces sont immunologiquement distinctes (Khelef et al., 1993).

Bien que *B. pertussis* possède une variabilité génétique restreinte, différentes populations bactériennes présentant des caractéristiques spécifiques circulent dans la population humaine. Les vaccins Ce contiennent généralement 1 à 3 souches inactivées, représentatives de la population bactérienne dominante qui circule dans une zone déterminée. La vaccination par le vaccin Ce a induit, dans les zones avec un taux de vaccination élevé, une importante réduction des isolats circulants qui entraient dans la composition des vaccins Ce. En France, l'utilisation du vaccin Ce a permis de contrôler les isolats couverts par la vaccination (portant les allèles *ptxP1-ptxA2/4-prn1-fim2*). Une augmentation des isolats non contrôlés par la vaccination (portant les allèles *ptxP3-ptxA1-prn2-fim3*) a pu être observée, avec notamment une modification des protéines fimbriales exprimées, de Fim 2 vers Fim 3. Ces isolats circulent toujours à l'heure actuelle en France et présentent par rapport aux isolats vaccinaux et de l'ère pré vaccinale une diminution de la taille du génome et une plus grande diversité génétique (Hegerle and Guiso, 2013).

Aucun changement n'a été observé chez *B. parapertussis* entre les ères pré et post vaccinales Ce.

Par ailleurs, après l'implantation de la stratégie vaccinale par le vaccin Ca, certains isolats n'exprimant pas la TP ou la FHA ont été observés, mais une des observations majeures concerne l'élévation du nombre d'isolats de *B. pertussis* ne produisant pas la pertactine (PRN). Cette modification impacte également *B. parapertussis*. Pour *B. pertussis*, il n'y avait pas d'isolats PRN- avant 2005, alors que 15% ont été recensés en 2013 et 14% en 2014. Par ailleurs, tous les isolats de *B. parapertussis* avant 2007 exprimaient la PRN, alors que 99% depuis 2007 ont perdu l'expression de la PRN et 100% après 2011 (source CNR, Institut Pasteur). Aucune différence n'a été observée en termes de virulence sur le modèle murin entre les isolats exprimant la PRN ou ne l'exprimant pas, aussi bien chez *B. pertussis* et *B. parapertussis* (Bouchez et al., 2011; Hegerle et al., 2012). Aucune différence n'a été montrée non plus chez les nouveau-nés de moins de 6 mois (Bodilis and Guiso, 2013). La prévalence de ces isolats déficients en PRN varie selon les régions du globe et dépend du taux de vaccination par les vaccins Ca (Hegerle and Guiso, 2014). Les causes de cette émergence ne sont actuellement pas connues. L'apparition de ces bactéries n'exprimant pas la PRN dans l'ère vaccinale Ca pourrait être liée au changement de l'immunité de la population humaine suite au changement de vaccin. En effet, il a été démontré que les anticorps anti-PRN seraient impliqués dans les phénomènes de phagocytose de la bactérie. L'absence de PRN pourrait ainsi permettre un meilleur échappement au système immunitaire (Hegerle et al., 2014). Toutefois, cette unique hypothèse paraît bien restrictive. En effet, l'évolution vers des isolats n'exprimant pas la PRN, également observée chez *B. parapertussis* pour laquelle il n'y a théoriquement pas de protection vaccinale croisée, nous montre qu'il peut s'agir également d'une micro-évolution naturelle des isolats de *B. pertussis* et *B. parapertussis* en vue de l'adaptation à l'hôte ou bien d'un évènement cyclique comme habituellement observé pour la coqueluche tous les 3-5 ans (Hegerle and Guiso, 2014).

#### **b. Le vaccin coquelucheux, responsable de l'émergence des autres espèces?**

L'augmentation des cas rapportés de colonisations ou infections chez l'Homme par les espèces de *Bordetella* non couvertes par la vaccination suscite une interrogation légitime: la pression vaccinale exercée sur *B. pertussis* peut elle entraîner l'émergence des espèces non couvertes par la vaccination ?

En effet, deux fois plus d'isolats de *B. parapertussis* ont été collectés au CNR de la coqueluche et des autres bordetelloses (Institut Pasteur, Paris) entre 2007 et 2013, comparativement à la période allant de 1996 à 2006 (Guiso and Hegerle, 2014). En 2014, neuf isolats de *B. parapertussis* ont été reçus au CNR, ce qui reste élevé par rapport aux années précédant 2007. Concernant *B. pertussis*, 81 isolats ont été collectés en 2014 soit un peu moins que les années précédentes, en rapport avec le cycle habituellement observé pour la coqueluche (source CNR, Institut Pasteur). En excluant les infections humaines à *B. avium*, *B. trematum* et *B. ansoipii*, qui restent relativement anecdotiques, le nombre de cas décrit d'infections à *B. bronchiseptica*, *B. holmesii*, *B. petrii*, et *B. hinzii* a augmenté au cours des dernières années dans la littérature.

A l'heure actuelle, il paraît difficile de mesurer l'imputabilité de la vaccination coquelucheuse dans l'émergence de nouvelles espèces. En effet, la description de plus en plus fréquente des cas associés aux espèces non couvertes par la vaccination dépend de nombreux facteurs, notamment de données épidémiologiques (vieillesse de la population), de l'amélioration des techniques diagnostiques (spectrométrie de masse, biologie moléculaire), et de caractéristiques intrinsèques aux bactéries de ce genre (capacité à persister au sein de l'hôte, interaction inter-espèce lors de co-infection), etc.

## **5) Acquisition de pathogénicité et adaptation à l'hôte: autres exemples dans d'autres genres bactériens**

L'évolution du génome a été étudiée chez d'autres genres bactériens pathogènes chez l'Homme, l'animal ou les plantes. Plusieurs exemples nous montrent que la restriction d'hôte et l'acquisition de la pathogénie ne sont pas spécifiques du genre *Bordetella*.

Parmi les *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, les Sérovars Gallinarum et Pullorum sont retrouvés exclusivement chez les volailles, le Sérovar Dublin est rencontré essentiellement chez les bovins mais également chez l'Homme, et le Sérovar Enteritidis, pathogène chez l'Homme, est ubiquiste. L'étude de ces Sérovars a permis de mettre en évidence que les Sérovars Gallinarum et Pullorum auraient émergé d'une lignée monophylétique du Sérovar Enteritidis. Le Sérotype Dublin correspond à une lignée indépendante qui aurait divergé à partir d'un ancêtre commun autres trois autres Sérovars. L'évolution de la pathogénicité chez ces 4 Sérovars est associée à une acquisition d'éléments

génétiques mobiles (SPIs ou *Salmonella* pathogenicity islands) qui sont, hormis quelques exceptions, présents dans tous les Sérovars. Une perte de gènes codant des protéines fimbriales a pu être mise en évidence dans les Sérovars aviaires Gallinarum et Pullorum. De plus, la restriction à l'hôte dans les Sérovars Dublin, Gallinarum et Pullorum est associée à une inactivation de fonctions métaboliques et de l'expression de structures de surface liée à la présence de pseudogènes (Langridge et al., 2015).

*Xylella fastidiosa* est un pathogène de plantes capable d'entraîner des maladies chez plusieurs hôtes (citron, amande, laurier rose, pêche, vigne). Son génome est réduit de moitié, comparativement à celui des espèces de *Xanthomonas* avec lesquelles elle partagerait un ancêtre commun. L'adaptation à un mode de vie pathogène et spécialisé à quelques hôtes chez *X. fastidiosa* est liée à une réduction du génome ayant entraîné une perte de fonctions. Les éléments restants du génome sont nécessaires et suffisants à la survie au sein de la plante (Meyer and Bogdanove, 2009).

Le genre *Bordetella* est un des plus bels exemples d'études d'acquisition de pathogénicité et d'adaptation à l'hôte rencontré dans la littérature. En effet, les autres exemples sont en règle générale moins bien étoffés, soit parce qu'un faible nombre d'espèces a été étudié, soit parce que la perte de fonctions ou l'acquisition de facteurs de virulence sont encore mal caractérisées...

## VII. Discussion: *Bordetella*, un genre dont les secrets de famille restent à découvrir

**"Le genre *Bordetella*, portrait de 9 espèces aux niches écologiques et pouvoirs pathogènes diverses ...**

*B. pertussis* et *B. parapertussis*, responsables de la coqueluche, sont les deux espèces phares du genre. *Bordetella pertussis*, est un pathogène respiratoire hautement contagieux qui affecte strictement l'espèce humaine. *Bordetella parapertussis* est l'agent d'une forme modérée de coqueluche chez l'Homme, et de pneumonies chroniques chez le mouton. Bien que notre vision anthropocentrique nous ait conduit à nous focaliser principalement sur ces deux bactéries, les autres espèces méritent une attention particulière. Les autres espèces décrites ont la plupart du temps été caractérisées et étudiées en raison de leur caractère pathogène opportuniste chez l'Homme mais elles ne sont pas (à l'exception de *B. holmesii*) restreintes à cet unique hôte.

*Bordetella bronchiseptica* a été isolée chez de nombreux mammifères dont le chien, le chat, le porc, le cheval, les rongeurs... (Goodnow, 1980) mais aussi chez l'Homme. Malgré leurs différences en termes de niches écologiques et de pathogénie, ces trois espèces ne sont pas en réalité 3 espèces génétiquement différentes, mais 3 sous espèces d'un même complexe. *B. bronchiseptica* est capable de causer des infections chez de nombreux mammifères et peut, au même titre que *B. avium* survivre dans l'environnement. *B. avium* est isolée chez les volailles, notamment chez la dinde. Cette bactérie a été retrouvée chez plusieurs oiseaux sauvages, qui constituent le réservoir principal (Raffel et al., 2002). *B. hinzii*, initialement décrite comme un commensal du tractus respiratoire des volailles, peut être pathogène dans certains cas chez les volailles et les rongeurs. Elle a été rapportée dans des cas de septicémies chez l'Homme et d'infections digestives et pulmonaires chez le sujet immunodéprimé (Fabre et al., 2015). *B. holmesii* est responsable de bactériémies majoritairement chez les sujets splénectomisés et a également été isolée au niveau respiratoire (Pittet et al., 2014). *B. trematum* et *B. ansorpii*, plus anecdotiques, n'ont jamais été isolées au niveau respiratoire (Vandamme et al., 1996; Ko et al., 2005). Enfin, *B. petrii* est quant à elle la seule espèce environnementale du genre *Bordetella*, capable d'infections opportunistes chez l'Homme (Le Coustumier et al., 2011).

A ce jour, *B. bronchiseptica* et *B. petrii* peuvent être identifiées comme de réels pathogènes opportunistes, capables de causer des infections le plus souvent respiratoires ou ORL après une étape préalable de colonisation (Gueirard et al., 1995; Le Coustumier et al., 2011). La transmission de *B. bronchiseptica* du réservoir animal à l'Homme a pu être démontrée, faisant de cette espèce un agent de zoonoses.

*B. hinzii* joue également un rôle d'opportuniste, et semblerait couvrir un spectre de manifestations cliniques plus large (atteintes digestives et respiratoires, bactériémies...). La possibilité d'une transmission à partir d'un réservoir aviaire a été mise en évidence récemment lors de la description d'un cas chez un patient hydrocureur nettoyant les canalisations d'élimination de déchets dans des usines d'abattage de volailles. *B. hinzii* peut persister dans les tractus respiratoire et digestif. La survenue de l'infection longtemps après la contamination peut rendre l'identification de la source difficile (Fabre et al., 2015). *B. avium* ne semble pas avoir un rôle majeur en pathogénie chez l'Homme.

*B. holmesii* est sans doute l'espèce la plus énigmatique. Son implication dans les tableaux invasifs a été largement démontrée, mais seulement de rares cas graves sans issue fatale ont été décrits (Russell et al., 2001). Son imputabilité dans les cas de pseudo-coqueluche n'est pas claire. En effet, le diagnostic par PCR reposant sur l'IS481 commune avec *B. pertussis* peut mener à des diagnostics erronés si une enquête exhaustive n'est pas réalisée autour du cas (début de la toux, statut vaccinal contre la coqueluche, etc.). De plus, la recherche d'autres étiologies virales et bactériennes n'est souvent pas entreprise. La possibilité d'une transmission inter-humaine a déjà été évoquée (Kamiya et al., 2012), mais cette hypothèse ne peut être retenue car l'exploration d'une contamination à la même source et la recherche d'autres étiologies n'ont pas été effectuées dans cette étude. Son rôle en tant que pathogène respiratoire émergent est donc encore discuté et ouvre la perspective de nombreuses études. A ce titre, il serait important d'investiguer l'implication de *B. holmesii* chez les patients atteints de mucoviscidose, comme cela a été démontré pour d'autres espèces.

Enfin, trop peu de cas ont été étayés pour *B. trematum* et *B. ansorpii* afin de pouvoir caractériser leur rôle en pathogénie.

**... a évolué d'une espèce environnementale proche de *Bordetella petrii* à l'espèce strictement humaine *Bordetella pertussis* ...**

Les différentes analyses phylogénétiques montrent l'étroite relation des *Bordetella* sp. avec les espèces environnementales des genres *Achromobacter* et *Alcaligenes*. *B. petrii* est la plus proche phylogénétiquement des genres *Achromobacter* et *Alcaligenes*, ce qui est en adéquation avec sa niche écologique. Par ailleurs, *B. bronchiseptica* est considérée comme l'ancêtre des deux espèces *B. pertussis* et *B. parapertussis*, qui auraient évolué à partir de deux lignées clonales indépendantes. Au niveau phénotypique et phylogénétique, *B. avium* est une espèce distincte de celles du complexe BBS. De toute évidence, *B. avium* a du diverger avant les espèces du complexe BBS car elle est plus éloignée dans l'échelle de l'évolution (von Wintzingerode et al., 2002; Diavatopoulos et al., 2005). *B. holmesii* est une espèce proche de *B. avium* et *B. hinzii*, paradoxalement placée à côté de *B. pertussis* lors des analyses basées sur l'ADNr 16S en raison d'une probable acquisition par transfert horizontal de cette séquence. Les relations phylogénétiques des autres espèces vis à vis du complexe BBS et de l'espèce environnementale *B. petrii* sont encore mal définies. De nouvelles études basées sur un plus grand nombre d'isolats, notamment des espèces *B. trematum* et *B. ansorpii*, pourraient permettre de mieux apprécier la position de chacune.

**... en raison d'une perte de fonctions ...**

En émettant le postulat que la sélection naturelle est associée à une restriction de niche écologique et une perte de fonctions visant à sélectionner les organismes les plus adaptés à un environnement donné, *B. petrii* pourrait être l'espèce la plus représentative de l'ancêtre commun des *Bordetella* sp.

Cette hypothèse est confortée par différentes analyses génomiques effectuées chez plusieurs espèces du genre *Bordetella*. En effet, l'analyse des génomes de *B. pertussis* et *B. parapertussis* montre une réduction de la taille du génome, et une augmentation du nombre de séquences d'insertion et de pseudogènes, comparativement à *B. bronchiseptica* et *B. petrii*. La réduction de la taille du génome impacte essentiellement des gènes impliqués dans le métabolisme d'un large éventail de composés (acides aminés, composés aromatiques, etc.) (Preston et al., 2004; Gross et al., 2008). La perte de gènes codant des fonctions métaboliques reflète un manque d'efficacité de la sélection naturelle pour leur maintien chez *B. pertussis* et

*B. parapertussis*, probablement parce que l'hôte humain représente un environnement constitué de composés métaboliques suffisants pour la survie de ces espèces. Les gènes impliqués dans les voies métaboliques sont alors rendus inutiles par l'adoption d'un style de vie strictement pathogène. De plus, l'analyse de pseudogènes chez *B. pertussis* et *B. parapertussis* montre qu'ils étaient impliqués à l'état fonctionnel dans le transport membranaire, les fonctions métaboliques et la synthèse de protéines de surface. La perte de structures de surface comme les flagelles, les *fimbriae* et des polysaccharides a probablement contribué à la virulence de *B. pertussis* et *B. parapertussis*, en réduisant le nombre de cibles pouvant être reconnues par le système immunitaire humain (Parkhill et al., 2003).

### ... et de l'acquisition de facteurs de virulence ...

Au-delà de la perte de fonctions ayant contribué grandement à l'évolution des bactéries du genre *Bordetella*, la présence de facteurs associés à la virulence doit être prise en considération pour comprendre l'adaptation à l'hôte. Les *Bordetella* sp. partagent en effet un certain nombre de facteurs de virulence. Les adhésines (FIM, FHA, PRN, auto-transporteurs) jouent principalement un rôle dans les phénomènes d'adhésion et d'immunomodulation et sont primordiales pour l'interaction avec l'hôte. Les effets des toxines (TP, AC-Hly, TDN, CTT, LPS) ne sont pas tous bien caractérisés, mais elles semblent avoir un rôle central dans la destruction de l'épithélium respiratoire cilié (CTT, LPS) et la dérégulation des fonctions cellulaires après pénétration dans la cellule hôte (TP, AC-Hly, BteA). D'autres facteurs (LPS, acquisition du fer, capsule) méritent d'être mieux étudiés chez les différentes espèces, afin de comprendre leur impact en pathologie.

L'expression différentielle des facteurs de virulence pourrait expliquer, au moins en partie, les différences observées en termes de pathogénie. Les trois espèces du complexe BBS partagent les mêmes facteurs de virulence à quelques exceptions près. La TP n'est exprimée que chez *B. pertussis*. En dehors de l'hyperlymphocytose, la TP ne semble pas responsable des symptômes caractéristiques de la coqueluche (Mattoo and Cherry, 2005). Le plus grand nombre de protéines fimbriales potentielles chez *B. bronchiseptica* pourrait contribuer à sa moindre spécificité d'hôte (Preston et al., 2004). Enfin, les changements dans la structure du LPS, avec la perte de l'Ag O chez *B. pertussis* permettant un meilleur échappement au système immunitaire de l'hôte, semblent également être un facteur d'adaptation à l'Homme (von Wintzingerode et al., 2002).

En dehors de la TDN et de la CTT, *B. avium* ne possède pas les toxines classiquement rencontrées dans le complexe BBS. Bien que mal caractérisées, ces deux toxines pourraient jouer un rôle physiopathologique central dans le coryza des volailles. L'analyse du génome de *B. avium* a montré la présence de gènes codant des potentielles sous unités fimbriales, ainsi que des protéines FHA-like, qui n'ont pas été mises en évidence chez les espèces du complexe BBS. Ces adhésines surnuméraires, si elles sont exprimées et fonctionnelles, pourraient être impliquées dans l'adhésion préférentielle aux cellules de la trachée et du tractus respiratoire des oiseaux et des volailles (Sebahia et al., 2006).

Hormis les gènes codant pour une protéine apparentée à FHA, les autres gènes de toxines (TP, AC-Hly, SSTT) et adhésines (FIM, PRN) présentes chez les *Bordetella* "classiques" n'ont pas été retrouvés chez *B. holmesii*. Diavatopoulos et coll. émettent l'hypothèse d'une émergence de *B. holmesii* chez l'Homme en raison de l'acquisition d'un îlot génomique de *B. pertussis* par transfert horizontal contenant entre autres un sidérophore capable de capter le fer et différentes pompes à efflux potentiellement impliquées dans des mécanismes de résistance aux antibiotiques (Diavatopoulos et al., 2006). La différence de structure des LPS de *B. holmesii* et *B. pertussis* pourrait également être en lien avec les différences observées au niveau clinique, *B. holmesii* étant impliquée dans un plus vaste répertoire de manifestations notamment invasives (Pittet et al., 2014). Enfin, l'expression d'une potentielle capsule mérite d'être explorée et serait compatible avec la survenue des cas invasifs majoritairement chez les sujets splénectomisés.

La caractérisation des facteurs de virulence chez les *Bordetella* sp. est à ce jour loin d'être exhaustive. L'approche génomique devrait permettre de mieux explorer les facteurs de virulence déjà connus, d'en découvrir de nouveaux et de comprendre quels phénomènes sont survenus pour expliquer leur présence/absence chez une espèce par rapport à l'autre.

Le phénomène d'expression différentielle de gènes codant les facteurs de virulence a été observé entre les espèces, mais il a également été mis en évidence au sein d'une même espèce. Différents isolats chez *B. bronchiseptica* peuvent exprimer différents sérotypes fimbriaux (Fim2, Fim3, FimA, FimN, FimX). La production de certaines protéines fimbriales par rapport à d'autres, ainsi que leur niveau d'expression, pourrait avoir un rôle dans l'adaptation à l'hôte (von Wintzingerode et al., 2002). Par ailleurs, l'expression de l'AC-Hly et du LPS peut être modifiée chez *B. bronchiseptica* lors de l'établissement de la chronicisation

de l'infection (Gueirard et al., 1995; Gueirard et al., 1998b). Cette variation d'expression doit être possible, au moins sur le plan théorique, chez toutes les espèces ayant la capacité de persister au sein de l'hôte, à savoir *B. bronchiseptica*, *B. petrii*, *B. holmesii* et *B. hinzii*.

### **... dont l'expression est orchestrée par le système BvgAS."**

Ces différents exemples projettent la discussion autour du système majeur de régulation, le système BvgAS, qui contribue à l'expression différentielle des facteurs de virulence. La régulation des gènes *vag*, relativement bien caractérisés, est en effet indispensable à l'établissement de l'infection. Le système BvgAS n'a pas seulement un rôle central dans la pathogénicité de ces bactéries, mais assurerait également l'adaptation aux conditions environnementales indispensable à la survie de certaines espèces, telles *B. bronchiseptica*, *B. avium* et *B. petrii*, dans l'environnement. Cette adaptation semble principalement relever de l'activation des gènes *vrg*. Même si les gènes *vrg* et leurs fonctions n'ont pas encore été correctement caractérisés, des différences ont pu être notées en termes d'expression de gènes *vrg* en fonction des espèces, corroborant cette hypothèse: *B. pertussis* possède par exemple les gènes codant l'uréase et les flagelles, mais ces derniers ne sont pas exprimés après activation des gènes *vrg*, contrairement à *B. bronchiseptica* (von Wintzingerode et al., 2002).

Bien que son origine ne soit pas connue, le système BvgAS a été mis en évidence chez toutes les espèces de *Bordetella*. Les différences relevées au niveau de la structure de ce système ont probablement un lien avec les fonctions qui lui incombent au sein de chaque espèce. Des études plus approfondies pourraient permettre de modéliser l'évolution du système BvgAS et ses implications dans l'adaptation à l'hôte. Quelques pistes peuvent cependant être entrevues: dans l'hypothèse où les *Bordetella* sp. ont évolué à partir d'une espèce environnementale, ce système pouvait être impliqué initialement dans des fonctions autres que la virulence. En effet, différentes données suggèrent que la protéine BvgS a pu être impliquée dans la régulation du statut énergétique de la cellule, en étant interconnectée avec la chaîne respiratoire de la bactérie. A l'autre extrémité de l'évolution, le rôle du système BvgAS chez *B. pertussis* peut susciter plusieurs questionnements. En effet, cette espèce n'est pas ou peu adaptée à des conditions de vie en dehors du tractus respiratoire humain. Le système BvgAS serait dans ce cas plus un garant de l'expression des gènes de virulence et aurait une importance moindre chez cette espèce qui a perdu toute aptitude à survivre dans

l'environnement. Le système BvgAS apparait dans ce cas comme un vestige probable de l'évolution, à partir d'un ancêtre pouvant s'adapter à différentes conditions environnementales. Autre hypothèse, ce système a peut-être été conservé chez *B. pertussis* car il pourrait avoir une influence dans des régulations plus fines, comme la régulation des facteurs de virulence en fonction des conditions de température, notamment entre la zone nasopharyngée et l'arbre bronchique ou encore lors de la transmission inter-humaine où il peut y avoir des variations de température (von Wintzingerode et al., 2002)...

Il existe d'autres systèmes de régulation chez les *Bordetella* sp., notamment le système RisAS à deux composantes qui serait impliqué dans la survie bactérienne dans des conditions restrictives (von Wintzingerode et al., 2002). De futures études permettront sans doute d'étayer leurs rôles.

### **"Le portrait actuel: la partie émergée de l'iceberg ?"**

Les infections liées aux espèces de *Bordetella* non classiques ont fleuri dans la littérature au cours des dernières années. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce phénomène.

Tout d'abord, ces infections ont été et sont certainement encore sous diagnostiquées. Les bases de données trop restreintes des systèmes d'identification manuels (galeries API, bioMérieux®) et automatisés (Vitek bioMérieux®, Phoenix BD®) utilisés en microbiologie ont sans doute conduit à de nombreuses erreurs d'identification. Par ailleurs, l'association des *Bordetella* sp. à d'autres pathogènes connus dans les prélèvements a peut être incité certains microbiologistes à les traiter par le mépris... L'avènement de la spectrométrie de masse et des techniques de biologie moléculaire devraient permettre de mettre en exergue plus d'infections à *Bordetella* sp. dans les futures années. En effet, la technique MALDI-TOF permet une identification rapide avec une discrimination correcte des différentes espèces de *Bordetella* (Degand et al., 2008; Fishbain et al., 2015). La collaboration clinico-biologique est à ce titre indispensable pour étayer de nouveaux cas. Enfin, des études complémentaires sont nécessaires afin d'établir les seuils de concentrations critiques pour les différentes espèces, dans le but de définir les options thérapeutiques les plus adéquates.

La description de ces infections est également à mettre en relation avec les modifications du mode de vie et la vaccination. L'évolution au cours des siècles vers un mode de vie sédentaire, avec regroupement des populations humaines dans les grandes villes, a probablement favorisé l'émergence de la coqueluche. En effet, *B. pertussis* présente un avantage évolutif à infecter les communautés humaines car elle est caractérisée par un taux de transmission élevé ( $R_0 = 15-17$ ) (Anderson and May, 1990) et a une durée de période infectieuse assez longue lui permettant de se répandre plus rapidement. Le risque encouru est un risque d'extinction car ces caractères peuvent conduire à de fortes fluctuations épidémiques (Bjornstad and Harvill, 2005). Ces dernières décennies, la pression vaccinale exercée sur *B. pertussis*, l'augmentation de l'espérance de vie, la domestication d'animaux sont autant de facteurs qui pourraient favoriser l'émergence d'espèces non responsables de coqueluche...

## VIII. Conclusion

**"Le genre *Bordetella*, portrait de 9 espèces aux niches écologiques et pouvoirs pathogènes diverses, a évolué d'une espèce environnementale proche de *Bordetella petrii* à l'espèce strictement humaine *Bordetella pertussis* en raison d'une perte de fonctions et de l'acquisition de facteurs de virulence dont l'expression est orchestrée par le système BvgAS."**

Tout est dit, ou presque, tant les investigations à mener sur les espèces de ce genre sont vastes. Le genre *Bordetella* est de toute évidence un des plus beaux exemples qui existe concernant l'évolution des espèces bactériennes et l'adaptation à l'hôte.

### **"Le portrait actuel: la partie émergée de l'iceberg ?"**

Sans hésitation, la réponse est "oui".

Outre le fait que nos connaissances actuelles sur le genre *Bordetella* ne soient sûrement pas exhaustives, la description de potentielles nouvelles espèces (Spilker et al., 2014) les prochaines années pourrait complexifier le portrait de famille... ou plutôt du genre. La découverte de nouvelles espèces permettra enfin de rendre hommage à Octave Gengou, en lui dédiant une *Bordetella gengouii*.

De toute évidence, l'aptitude de *B. petrii*, *B. bronchiseptica*, *B. holmesii* et même *B. hinzii* à persister au sein de leur hôte, leur confère d'énormes atouts en termes d'interactions, d'évolution et d'adaptation. Ces espèces sont certainement les plus susceptibles de conduire à la génération de nouvelles espèces adaptées à l'Homme. Ainsi, *B. pertussis* et *B. parapertussis* pourraient souffrir dans le futur d'une blessure narcissique, en voyant les feux des projecteurs se tourner vers de nouvelles espèces pathogènes pour l'Homme...

## IX. Références bibliographiques

- Abouanaser SF, Strigley JA, Nguyen T, Dale SE, Johnstone J, Wilcox L, Jamieson F, Rawte P, Pernica JM. 2013. *Bordetella holmesii*, an emerging cause of septic arthritis. J Clin Microbiol 51:1313-1315.
- Ackermann MR, Rimler RB, Thurston JR. 1991. Experimental model of atrophic rhinitis in gnotobiotic pigs. Infect Immun 59:3626-3629.
- Almagro-Molto M, Eder W, Schubert S. 2015. *Bordetella trematum* in chronic ulcers: report on two cases and review of the literature. Infection (sous presse).
- Anderson RM, May RM. 1990. Immunisation and herd immunity. Lancet 335:641-645.
- Andreasen C, Carbonetti NH. 2008. Pertussis toxin inhibits early chemokine production to delay neutrophil recruitment in response to *Bordetella pertussis* respiratory tract infection in mice. Infect Immun 76:5139-5148.
- Antila M, He Q, de Jong C, Aarts I, Verbakel H, Bruisten S, Keller S, Haanpera M, Makinen J, Eerola E, Viljanen MK, Mertsola J, van der Zee A. 2006. *Bordetella holmesii* DNA is not detected in nasopharyngeal swabs from Finnish and Dutch patients with suspected pertussis. J Med Microbiol 55:1043-1051.
- Arico B, Gross R, Smida J, Rappuoli R. 1987. Evolutionary relationships in the genus *Bordetella*. Mol Microbiol 1:301-308.
- Arico B, Rappuoli R. 1987. *Bordetella parapertussis* and *Bordetella bronchiseptica* contain transcriptionally silent pertussis toxin genes. J Bacteriol 169:2847-2853.
- Arvand M, Feldhues R, Mieth M, Kraus T, Vandamme P. 2004. Chronic cholangitis caused by *Bordetella hinzii* in a liver transplant recipient. J Clin Microbiol 42:2335-2337.
- Barrado L, Barrios M, Sanz F, Chaves F. 2011. *Bordetella holmesii* bacteremia in a child with sickle cell disease. Enferm Infecc Microbiol Clin 29:779-780.
- Bassetti M, Nicco E, Giacobbe DR, Marchese A, Coppo E, Barbieri R, Viscoli C. 2012. *Bordetella holmesii* endocarditis in a patient with systemic lupus erythematosus treated with immunosuppressive agents. J Chemother 24:240-242.
- Bemis DA, Carmichael LE, Appel MJ. 1977. Naturally occurring respiratory disease in a kennel caused by *Bordetella bronchiseptica*. Cornell Vet 67:282-293.
- Bjornstad ON, Harvill ET. 2005. Evolution and emergence of *Bordetella* in humans. Trends Microbiol 13:355-359.
- Blackall PJ, Eaves LE, Fegan M. 1995. Antimicrobial sensitivity testing of Australian isolates of *Bordetella avium* and the *Bordetella avium*-like organism. Aust Vet J 72:97-100.
- Bodilis H, Guiso N. 2013. Virulence of pertactin-negative *Bordetella pertussis* isolates from infants, France. Emerg Infect Dis 19:471-474.
- Bottero D, Griffith MM, Lara C, Flores D, Pianciola L, Gaillard ME, Mazzeo M, Zamboni MI, Spoleti MJ, Anchart E, Ruggeri D, Sorhouet C, Fiori S, Galas M, Tondella ML, Hozbor DF. 2013. *Bordetella holmesii* in children suspected of pertussis in Argentina. Epidemiol Infect 141:714-717.

- Bouchez V, Brun D, Dore G, Njamkepo E, Guiso N. 2011. *Bordetella parapertussis* isolates not expressing pertactin circulating in France. Clin Microbiol Infect 17:675-682.
- Carbonetti NH. 2010. Pertussis toxin and adenylate cyclase toxin: key virulence factors of *Bordetella pertussis* and cell biology tools. Future Microbiol 5:455-469.
- Center for Disease Control and prevention (CDC). 1995. Erythromycin-resistant *Bordetella pertussis*, Yuma County, Arizona. JAMA 273:13-14.
- Chanter N, Magyar T, Rutter JM. 1989. Interactions between *Bordetella bronchiseptica* and toxigenic *Pasteurella multocida* in atrophic rhinitis of pigs. Res Vet Sci 47:48-53.
- Chen WX, Alley MR, Manktelow BW. 1989. Experimental induction of pneumonia in mice with *Bordetella parapertussis* isolated from sheep. J Comp Pathol 100:77-89.
- Clare S, Ahmed T, Singh R, Gough S. 2010. *Bordetella holmesii*: a rare cause of bacterial endocarditis in a post-splenectomy patient. BMJ Case Rep published online doi: 10.1136/bcr.11.2009.2459.
- Cookson BT, Vandamme P, Carlson LC, Larson AM, Sheffield JV, Kersters K, Spach DH. 1994. Bacteremia caused by a novel *Bordetella* species, "*B. hinzi*". J Clin Microbiol 32:2569-2571.
- Cotter PA, Yuk MH, Mattoo S, Akerley BJ, Boschwitz J, Relman DA, Miller JF. 1998. Filamentous hemagglutinin of *Bordetella bronchiseptica* is required for efficient establishment of tracheal colonization. Infect Immun 66:5921-5929.
- Coutte L, Alonso S, Reveneau N, Willery E, Quatannens B, Loch C, Jacob-Dubuisson F. 2003. Role of adhesin release for mucosal colonization by a bacterial pathogen. J Exp Med 197:735-742.
- Couturier AP, Dahl K. 2014. *Bordetella holmesii* endocarditis: case report and review of literature. Pediatr Infect Dis J published online doi: 10.1097/INF.0000000000000234.
- Cowart RP, Backstrom L, Brim TA. 1989. *Pasteurella multocida* and *Bordetella bronchiseptica* in atrophic rhinitis and pneumonia in swine. Can J Vet Res 53:295-300.
- Cross RF. 1962. *Bordetella bronchiseptica*-induced porcine atrophic rhinitis. J Am Vet Med Assoc 141:1467-1468.
- Cummings CA, Bootsma HJ, Relman DA, Miller JF. 2006. Species- and strain-specific control of a complex, flexible regulon by *Bordetella* BvgAS. J Bacteriol 188:1775-1785.
- Cummings CA, Brinig MM, Lepp PW, van de Pas S, Relman DA. 2004. *Bordetella* species are distinguished by patterns of substantial gene loss and host adaptation. J Bacteriol 186:1484-1492.
- Daxboeck F, Goerzer E, Apfalter P, Nehr M, Krause R. 2004. Isolation of *Bordetella trematum* from a diabetic leg ulcer. Diabet Med 21:1247-1248.
- Degand N, Carbonnelle E, Dauphin B, Beretti JL, Le Bourgeois M, Sermet-Gaudelus I, Segonds C, Berche P, Nassif X, Ferroni A. 2008. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of nonfermenting gram-negative bacilli isolated from cystic fibrosis patients. J Clin Microbiol 46:3361-3367.

- Diavatopoulos DA, Cummings CA, Schouls LM, Brinig MM, Relman DA, Mooi FR. 2005. *Bordetella pertussis*, the causative agent of whooping cough, evolved from a distinct, human-associated lineage of *B. bronchiseptica*. PLoS Pathog 1:e45.
- Diavatopoulos DA, Cummings CA, van der Heide HG, van Gent M, Liew S, Relman DA, Mooi FR. 2006. Characterization of a highly conserved island in the otherwise divergent *Bordetella holmesii* and *Bordetella pertussis* genomes. J Bacteriol 188:8385-8394.
- Dinu S, Guillot S, Dragomirescu CC, Brun D, Vancea G, Ionescu BM, Gherman MF, Bjerkestrand AF, Ungureanu V, Guiso N, Damian M. 2013. Whooping cough in South-East Romania: a one year study. Diag Microbiol Infect Dis 78:302-306.
- Donato GM, Hsia HL, Green CS, Hewlett EL. 2005. Adenylate cyclase toxin (ACT) from *Bordetella hinzii*: characterization and differences from ACT of *Bordetella pertussis*. J Bacteriol 187:7579-7588.
- Dorbecker C, Licht C, Korber F, Plum G, Haefs C, Hoppe B, Seifert H. 2007. Community-acquired pneumonia due to *Bordetella holmesii* in a patient with frequently relapsing nephrotic syndrome. J Infect 54:e203-205.
- Dorittke C, Vandamme P, Hinz KH, Schemken-Birk EM, Wirsing von Konig CH. 1995. Isolation of a *Bordetella avium*-like organism from a human specimen. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 14:451-454.
- Everest P, Li J, Douce G, Charles I, De Azavedo J, Chatfield S, Dougan G, Roberts M. 1996. Role of the *Bordetella pertussis* P.69/pertactin protein and the P.69/pertactin RGD motif in the adherence to and invasion of mammalian cells. Microbiology 142:3261-3268.
- Fabre A, Dupin C, Benezit F, Goret J, Piau C, Jouneau S, Guillot S, Mégraud F, Kayal S, Desrues B, Le Coustumier A, Guiso N. 2015. *Bordetella hinzii* opportunistic pulmonary infections after avian exposure and review of literature. Emerg Infect Dis (submitted).
- Fernandez RC, Weiss AA. 1994. Cloning and sequencing of a *Bordetella pertussis* serum resistance locus. Infect Immun 62:4727-4738.
- Ferry NS. 1910. A preliminary report of the bacterial findings in canine distemper. Am Vet Rev 499-504.
- Filion R, Cloutier S, Vrancken ER, Bernier G. 1967. Respiratory infection in the turkey caused by a bacterium related to *Bordetella bronchiseptica*. Can J Comp Med Vet Sci 31:129-134.
- Finn TM, Amsbaugh DF. 1998. Vag8, a *Bordetella pertussis* bvg-regulated protein. Infect Immun 66:3985-3989.
- Finn TM, Stevens LA. 1995. Tracheal colonization factor: a *Bordetella pertussis* secreted virulence determinant. Mol Microbiol 16:625-634.
- Fishbain JT, Riederer K, Sawaf H, Mody R. 2015. Invasive *Bordetella holmesii* infections. Infect Dis 47:65-68.
- Flak TA, Goldman WE. 1999. Signalling and cellular specificity of airway nitric oxide production in pertussis. Cell Microbiol 1:51-60.

- Flak TA, Heiss LN, Engle JT, Goldman WE. 2000. Synergistic epithelial responses to endotoxin and a naturally occurring muramyl peptide. *Infect Immun* 68:1235-1242.
- Fry NK, Duncan J, Edwards MT, Tilley RE, Chitnavis D, Harman R, Hammerton H, Dainton L. 2007a. A UK clinical isolate of *Bordetella hinzii* from a patient with myelodysplastic syndrome. *J Med Microbiol* 56:1700-1703.
- Fry NK, Duncan J, Malnick H, Cockcroft PM. 2007b. The first UK isolate of "*Bordetella ansorpii*" from an immunocompromised patient. *J Med Microbiol* 56:993-995.
- Fry NK, Duncan J, Malnick H, Warner M, Smith AJ, Jackson MS, Ayoub A. 2005. *Bordetella petrii* clinical isolate. *Emerg Infect Dis* 11:1131-1133.
- Fry NK, Duncan J, Vaghji L, George RC, Harrison TG. 2010. Antimicrobial susceptibility testing of historical and recent clinical isolates of *Bordetella pertussis* in the United Kingdom using the Etest method. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 29:1183-1185.
- Funke G, Hess T, von Graevenitz A, Vandamme P. 1996. Characteristics of *Bordetella hinzii* strains isolated from a cystic fibrosis patient over a 3-year period. *J Clin Microbiol* 34:966-969.
- Gadea I, Cuenca-Estrella M, Benito N, Blanco A, Fernandez-Guerrero ML, Valero-Guillen PL, Soriano F. 2000. *Bordetella hinzii*, a "new" opportunistic pathogen to think about. *J Infect* 40:298-299.
- Garrity GM, Bell JA, Lilburn T. 2005. Class II. Betaproteobacteria class. nov. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd edition. 575-922.
- Gerlach G, Janzen S, Beier D, Gross R. 2004. Functional characterization of the BvgAS two-component system of *Bordetella holmesii*. *Microbiology* 150:3715-3729.
- Gerlach G, von Wintzingerode F, Middendorf B, Gross R. 2001. Evolutionary trends in the genus *Bordetella*. *Microbes Infect* 3:61-72.
- Geuijen CA, Willems RJ, Hoogerhout P, Puijk WC, Meloen RH, Mooi FR. 1998. Identification and characterization of heparin binding regions of the Fim2 subunit of *Bordetella pertussis*. *Infect Immun* 66:2256-2263.
- Geuijen CA, Willems RJ, Mooi FR. 1996. The major fimbrial subunit of *Bordetella pertussis* binds to sulfated sugars. *Infect Immun* 64:2657-2665.
- Goldman WE, Klapper DG, Baseman JB. 1982. Detection, isolation, and analysis of a released *Bordetella pertussis* product toxic to cultured tracheal cells. *Infect Immun* 36:782-794.
- Goodnow RA. 1980. Biology of *Bordetella bronchiseptica*. *Microbiol Rev* 44:722-738.
- Greig JR, Gunda SS, Kwan JTC. 2001. *Bordetella holmesii* bacteraemia in an individual on haemodialysis. *Scand J Infect Dis* 33:716-717.
- Gross R, Guzman CA, Sebahia M, dos Santos VA, Pieper DH, Koebnik R, Lechner M, Bartels D, Buhrmester J, Choudhuri JV, Ebensen T, Gaigalat L, Herrmann S, Khachane AN, Larisch C, Link S, Linke B, Meyer F, Mormann S, Nakunst D, Ruckert C, Schneiker-Bekel S, Schulze K, Vorholter FJ, Yevsa T, Engle JT, Goldman WE, Puhler A, Gobel UB, Goesmann A, Blocker H, Kaiser O, Martinez-Arias R. 2008. The missing link: *Bordetella petrii* is endowed with both the metabolic versatility of

- environmental bacteria and virulence traits of pathogenic *Bordetellae*. BMC Genomics 9:449.
- Gross R, Keidel K, Schmitt K. 2010. Resemblance and divergence: the "new" members of the genus *Bordetella*. Med Microbiol Immunol 199:155-163.
- Gueirard P, Druilhe A, Pretolani M, Guiso N. 1998a. Role of adenylate cyclase-hemolysin in alveolar macrophage apoptosis during *Bordetella pertussis* infection *in vivo*. Infect Immun 66:1718-1725.
- Gueirard P, Le Blay K, Le Coustumier A, Chaby R, Guiso N. 1998b. Variation in *Bordetella bronchiseptica* lipopolysaccharide during human infection. FEMS Microbiol Lett 162:331-337.
- Gueirard P, Weber C, Le Coustumier A, Guiso N. 1995. Human *Bordetella bronchiseptica* infection related to contact with infected animals: persistence of bacteria in host. J Clin Microbiol 33:2002-2006.
- Guillot S, Descours G, Gillet Y, Etienne J, Floret D, Guiso N. 2012. Macrolide-resistant *Bordetella pertussis* infection in newborn girl, France. Emerg Infect Dis 18:966-968.
- Guiso N. 2015. *Bordetella pertussis*. In: Molecular Medical Microbiology, Elsevier edition. 1507-1527.
- Guiso N, Hegerle N. 2014. Other *Bordetellas*, lessons for and from pertussis vaccines. Expert Rev Vaccines 13:1125-1133.
- Guiso N, Liese J, Plotkin S. 2011a. The Global Pertussis Initiative: meeting report from the fourth regional roundtable meeting, France, April 14-15, 2010. Hum Vaccin 7:481-488.
- Guiso N, Wirsing von Konig CH, Forsyth K, Tan T, Plotkin SA. 2011b. The Global Pertussis Initiative: report from a round table meeting to discuss the epidemiology and detection of pertussis, Paris, France, 11-12 January 2010. Vaccine 29:1115-1121.
- Halim I, Ihibbane F, Belabbes H, Zerouali K, Mdaghri NE. 2014. Isolation of *Bordetella trematum* from bacteremia. Ann Biol Clin 72:612-614.
- Hansen W, Freney J. 2002. La coqueluche. In: Des bactéries et des hommes, Privat edition. 67-70.
- Harrington AT, Castellanos JA, Ziedalski TM, Clarridge JE, 3rd, Cookson BT. 2009. Isolation of *Bordetella avium* and novel *Bordetella* strain from patients with respiratory disease. Emerg Infect Dis 15:72-74.
- Harvill ET, Preston A, Cotter PA, Allen AG, Maskell DJ, Miller JF. 2000. Multiple roles for *Bordetella* lipopolysaccharide molecules during respiratory tract infection. Infect Immun 68:6720-6728.
- Hayashimoto N, Morita H, Yasuda M, Ishida T, Kameda S, Takakura A, Itoh T. 2012. Prevalence of *Bordetella hinzii* in mice in experimental facilities in Japan. Res Vet Sci 93:624-626.
- Hayashimoto N, Yasuda M, Goto K, Takakura A, Itoh T. 2008. Study of a *Bordetella hinzii* isolate from a laboratory mouse. Comp Med 58:440-446.

- Hazenbos WL, van den Berg BM, Geuijen CW, Mooi FR, van Furth R. 1995. Binding of FimD on *Bordetella pertussis* to very late antigen-5 on monocytes activates complement receptor type 3 via protein tyrosine kinases. *J Immunol* 155:3972-3978.
- Hegerle N, Dore G, Guiso N. 2014. Pertactin deficient *Bordetella pertussis* present a better fitness in mice immunized with an acellular pertussis vaccine. *Vaccine* 32:6597-6600.
- Hegerle N, Guiso N. 2013. Epidemiology of whooping cough & typing of *Bordetella pertussis*. *Future Microbiol* 8:1391-1403.
- Hegerle N, Guiso N. 2014. *Bordetella pertussis* and pertactin-deficient clinical isolates: lessons for pertussis vaccines. *Expert Rev Vaccines* 13:1135-1146.
- Hegerle N, Paris AS, Brun D, Dore G, Njamkepo E, Guillot S, Guiso N. 2012. Evolution of French *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* isolates: increase of *Bordetellae* not expressing pertactin. *Clin Microbiol Infect* 18:340-346.
- Hegerle N, Rayat L, Dore G, Zidane N, Bedouelle H, Guiso N. 2013. *In vitro* and *in vivo* analysis of the production of the *Bordetella* type three secretion system effector A in *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* and *Bordetella bronchiseptica*. *Microbes Infect* 15:399-408.
- Hernandez-Porto M, Cuervo M, Miguel-Gomez MA, Delgado T, Lecuona M. 2013. Diabetic leg ulcer colonized by *Bordetella trematum*. *Rev Esp Quimioter* 26:72-73.
- Hewlett EL. 1999. A commentary on the pathogenesis of pertussis. *Clin Infect Dis* 28 Suppl 2:S94-98.
- Hinz KH, Glunder G, Luders H. 1978. Acute respiratory disease in turkey poultz caused by *Bordetella bronchiseptica*-like bacteria. *Vet Rec* 103:262-263.
- Horiguchi Y, Nakai T, Kume K. 1991. Effects of *Bordetella bronchiseptica* dermonecrotic toxin on the structure and function of osteoblastic clone MC3T3 cells. *Infect Immun* 59:1112-1116.
- Horiguchi Y, Senda T, Sugimoto N, Katahira J, Matsuda M. 1995. *Bordetella bronchiseptica* dermonecrotizing toxin stimulates assembly of actin stress fibers and focal adhesions by modifying the small GTP-binding protein rho. *J Cell Sci* 108:3243-3251.
- Horiguchi Y, Sugimoto N, Matsuda M. 1993. Stimulation of DNA synthesis in osteoblast-like MC3T3 cells by *Bordetella bronchiseptica* dermonecrotic toxin. *Infect Immun* 61:3611-3615.
- Hristov AC, Auwaerter PG, Romagnoli M, Carroll KC. 2008. *Bordetella hinzii* septicemia in association with Epstein-Barr virus viremia and an Epstein-Barr virus-associated diffuse large B-cell lymphoma. *Diagn Microbiol Infect Dis* 61:484-486.
- Instruction DGS/RI1/2014/310 du 7 novembre 2014 relative à la conduite à tenir devant un ou plusieurs cas de coqueluche. Direction Générale de la Santé. Ministère des affaires sociales, de la santé et des droits des femmes.
- Jiyipong T, Morand S, Jittapalapong S, Raoult D, Rolain JM. 2013. *Bordetella hinzii* in rodents, Southeast Asia. *Emerg Infect Dis* 19:502-503.
- Jonckheere S, De Baere T, Schroeyers P, Soetens O, De Bel A, Surmont I. 2012. Prosthetic valve endocarditis caused by *Bordetella holmesii*, an *Acinetobacter* lookalike. *J Med Microbiol* 61:874-877.

- Kamiya H, Otsuka N, Ando Y, Odaira F, Yoshino S, Kawano K, Takahashi H, Nishida T, Hidaka Y, Toyozumi-Ajisaka H, Shibayama K, Kamachi K, Sunagawa T, Taniguchi K, Okabe N. 2012. Transmission of *Bordetella holmesii* during pertussis outbreak, Japan. *Emerg Infect Dis* 18:1166-1169.
- Katsukawa C, Kushibiki C, Nishito A, Nishida R, Kuwabara N, Kawahara R, Otsuka N, Miyaji Y, Toyozumi-Ajisaka H, Kamachi K. 2013. Bronchitis caused by *Bordetella holmesii* in a child with asthma misdiagnosed as mycoplasmal infection. *J Infect Chemother* 19:534-537.
- Kattar MM, Chavez JF, Limaye AP, Rassouljian-Barrett SL, Yarfitz SL, Carlson LC, Houze Y, Swanzy S, Wood BL, Cookson BT. 2000. Application of 16S rRNA gene sequencing to identify *Bordetella hinzii* as the causative agent of fatal septicemia. *J Clin Microbiol* 38:789-794.
- Kerstens K, Hinz KH, Hertle A, Segers P, Lievens A, Siegmann O, De Ley J. 1984. *Bordetella avium* sp. nov., isolated from the respiratory tracts of turkeys and other birds. *Int J Syst Bacteriol* 34:56-70.
- Khelef N, Danve B, Quentin-Millet MJ, Guiso N. 1993. *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis*: two immunologically distinct species. *Infect Immun* 61:486-490.
- Khelef N, Guiso N. 1995. Induction of macrophage apoptosis by *Bordetella pertussis* adenylate cyclase-hemolysin. *FEMS Microbiol Lett* 134:27-32.
- Kimbrough TG, Miller SI. 2002. Assembly of the type III secretion needle complex of *Salmonella typhimurium*. *Microbes Infect* 4:75-82.
- Kirimanjeswara GS, Agosto LM, Kennett MJ, Bjornstad ON, Harvill ET. 2005. Pertussis toxin inhibits neutrophil recruitment to delay antibody-mediated clearance of *Bordetella pertussis*. *J Clin Invest* 115:3594-3601.
- Ko KS, Peck KR, Oh WS, Lee NY, Lee JH, Song JH. 2005. New species of *Bordetella*, *Bordetella ansorpii* sp. nov., isolated from the purulent exudate of an epidermal cyst. *J Clin Microbiol* 43:2516-2519.
- Kobisch M, Tillon JP, Perrin G. 1979. Pathologie respiratoire du porc: détermination du pouvoir pathogène expérimental d'une souche de *Bordetella bronchiseptica*. *Rec Med Vet* 155:225-232.
- Kuiken T, Kennedy S, Barrett T, Van de Bildt MW, Borgsteede FH, Brew SD, Codd GA, Duck C, Deaville R, Eybatov T, Forsyth MA, Foster G, Jepson PD, Kydyrmanov A, Mitrofanov I, Ward CJ, Wilson S, Osterhaus AD. 2006. The 2000 canine distemper epidemic in Caspian seals (*Phoca caspica*): pathology and analysis of contributory factors. *Vet Pathol* 43:321-338.
- Kurzynski TA, Boehm DM, Rott-Petri JA, Schell RF, Allison PE. 1988. Antimicrobial susceptibilities of *Bordetella* species isolated in a Multicenter Pertussis Surveillance Project. *Antimicrob Agents Chemother* 32:137-140.
- Langridge GC, Fookes M, Connor TR, Feltwell T, Feasey N, Parsons BN, Seth-Smith HM, Barquist L, Stedman A, Humphrey T, Wigley P, Peters SE, Maskell DJ, Corander J, Chabalgoity JA, Barrow P, Parkhill J, Dougan G, Thomson NR. 2015. Patterns of genome evolution that have accompanied host adaptation in *Salmonella*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112:863-868.

- Le Coustumier A. 2003. Les infections humaines à *Bordetella bronchiseptica*. *Spectra Biologie* 22:33-39.
- Le Coustumier A, Gueirard P, Guiso N. 1995. Epidémiologie des infections humaines à *Bordetella bronchiseptica*. *Med Mal Infect* 25:1243-1247.
- Le Coustumier A, Njamkepo E, Cattoir V, Guillot S, Guiso N. 2011. *Bordetella petrii* infection with long-lasting persistence in human. *Emerg Infect Dis* 17:612-618.
- Lindquist SW, Weber DJ, Mangum ME, Hollis DG, Jordan J. 1995. *Bordetella holmesii* sepsis in an asplenic adolescent. *Pediatr Infect Dis J* 14:813-815.
- Livovsky DM, Leibowitz D, Hidalgo-Grass C, Temper V, Salameh S, Korem M. 2012. *Bordetella holmesii* meningitis in an asplenic patient with systemic lupus erythematosus. *J Med Microbiol* 61:1165-1167.
- Locht C, Antoine R, Jacob-Dubuisson F. 2001. *Bordetella pertussis*, molecular pathogenesis under multiple aspects. *Curr Opin Microbiol* 4:82-89.
- Locht C, Barstad PA, Coligan JE, Mayer L, Munoz JJ, Smith SG, Keith JM. 1986. Molecular cloning of pertussis toxin genes. *Nucleic Acids Res* 14:3251-3261.
- Martin WB. 1996. Respiratory infections of sheep. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 19:171-179.
- Mathewson JJ, Simpson RB. 1982. Glucose-nonfermenting Gram-negative bacilli associated with clinical veterinary specimens. *J Clin Microbiol* 15:1016-1018.
- Mattoo S, Cherry JD. 2005. Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other *Bordetella* subspecies. *Clin Microbiol Rev* 18:326-382.
- Mattoo S, Yuk MH, Huang LL, Miller JF. 2004. Regulation of type III secretion in *Bordetella*. *Mol Microbiol* 52:1201-1214.
- Mazengia E, Silva EA, Peppe JA, Timperi R, George H. 2000. Recovery of *Bordetella holmesii* from patients with pertussis-like symptoms: use of pulsed-field gel electrophoresis to characterize circulating strains. *J Clin Microbiol* 38:2330-2333.
- McCavit TL, Grube S, Revell P, Quinn CT. 2008. *Bordetella holmesii* bacteremia in sickle cell disease. *Pediatr Blood Cancer* 51:814-816.
- Meyer DF, Bogdanove AJ. 2009. Genomics-driven Advances in *Xanthomonas* Biology. In: Plant pathogenic bacteria. *Genomics and Molecular Biology*. 147-162.
- Middendorf B, Stubs D, Guiso N, Deppisch H, Gross R, Fuchs TM. 2005. Phg, a novel member of the autotransporter family present in *Bordetella* species. *Microbiol Res* 160:329-336.
- Miranda C, Porte L, Garcia P. 2012. *Bordetella holmesii* in nasopharyngeal samples from Chilean patients with suspected *Bordetella pertussis* infection. *J Clin Microbiol* 50:1505.
- Miranda C, Wozniak A, Castillo C, Geoffroy E, Zumaran C, Porte L, Roman JC, Potin M, Garcia P. 2013. Presence of *Bordetella holmesii* in an outbreak of pertussis in Chile. *Rev Chilena Infectol* 30:237-243.

- Moissenet D, Leverger G, Merens A, Bonacorsi S, Guiso N, Vu-Thien H. 2011. Septic arthritis caused by *Bordetella holmesii* in an adolescent with chronic haemolytic anaemia. *J Med Microbiol* 60:1705-1707.
- Monnier S, Therby A, Couzon B, Doucet-Populaire F, Greder-Belan A. 2010. *Bordetella holmesii* bacteremia in a 26-year-old patient with sickle cell disease. *Med Mal Infect* 40:299-301.
- Mooi FR, Jansen WH, Brunings H, Gielen H, van der Heide HG, Walvoort HC, Guinee PA. 1992. Construction and analysis of *Bordetella pertussis* mutants defective in the production of fimbriae. *Microb Pathog* 12:127-135.
- Morris JT, Myers M. 1998. Bacteremia due to *Bordetella holmesii*. *Clin Infect Dis* 27:912-913.
- Morse SI. 1977. Lymphocytosis-promoting factor of *Bordetella pertussis*: isolation, characterization, and biological activity. *J Infect Dis* 136:234-238.
- Mortensen JE, Brumbach A, Shryock TR. 1989. Antimicrobial susceptibility of *Bordetella avium* and *Bordetella bronchiseptica* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 33:771-772.
- Musser JM, Hewlett EL, Peppler MS, Selander RK. 1986. Genetic diversity and relationships in populations of *Bordetella* spp. *J Bacteriol* 166:230-237.
- Nei T, Hyodo H, Sonobe K, Dan K, Saito R. 2012. First report of infectious pericarditis due to *Bordetella holmesii* in an adult patient with malignant lymphoma. *J Clin Microbiol* 50:1815-1817.
- Nguyen LB, Epelboin L, Gabarre J, Lecso M, Guillot S, Bricaire F, Caumes E, Guiso N. 2013. Recurrent *Bordetella holmesii* bacteremia and nasal carriage in a patient receiving rituximab. *Emerg Infect Dis* 19:1703-1705.
- Njamkepo E, Bonacorsi S, Debruyne M, Gibaud SA, Guillot S, Guiso N. 2011. Significant finding of *Bordetella holmesii* DNA in nasopharyngeal samples from French patients with suspected pertussis. *J Clin Microbiol* 49:4347-4348.
- Njamkepo E, Delisle F, Hagege I, Gerbaud G, Guiso N. 2000. *Bordetella holmesii* isolated from a patient with sickle cell anemia: analysis and comparison with other *Bordetella holmesii* isolates. *Clin Microbiol Infect* 6:131-136.
- Nogi M, Bankowski MJ, Pien FD. 2014. Septic Arthritis and Osteomyelitis Due to *Bordetella petrii*. *J Clin Microbiol* (sous presse).
- Ochman H, Moran NA. 2001. Genes lost and genes found: evolution of bacterial pathogenesis and symbiosis. *Science* 292:1096-1099.
- Odugbo MO, Musa U, Ekundayo SO, Okewole PA, Esilonu J. 2006. *Bordetella avium* infection in chickens and quail in Nigeria: preliminary investigations. *Vet Res Commun* 30:1-5.
- Olin P, Rasmussen F, Gustafsson L, Hallander HO, Heijbel H. 1997. Randomised controlled trial of two-component, three-component, and five-component acellular pertussis vaccines compared with whole-cell pertussis vaccine. Ad Hoc Group for the Study of Pertussis Vaccines. *Lancet* 350:1569-1577.

- Palacian Ruiz MP, Vasquez Martinez MA, Lopez Calleja AI. 2013. Respiratory infection caused by *Bordetella hinzii*. Arch Broncopneumol 49:409-410.
- Panagopoulos MI, Saint Jean M, Brun D, Guiso N, Bekal S, Ovetchkine P, Tapiero B. 2010. *Bordetella holmesii* bacteremia in asplenic children: report of four cases initially misidentified as *Acinetobacter lwoffii*. J Clin Microbiol 48:3762-3764.
- Parkhill J, Sebahia M, Preston A, Murphy LD, Thomson N, Harris DE, Holden MT, Churcher CM, Bentley SD, Mungall KL, Cerdeno-Tarraga AM, Temple L, James K, Harris B, Quail MA, Achtman M, Atkin R, Baker S, Basham D, Bason N, Cherevach I, Chillingworth T, Collins M, Cronin A, Davis P, Doggett J, Feltwell T, Goble A, Hamlin N, Hauser H, Holroyd S, Jagels K, Leather S, Moule S, Norberczak H, O'Neil S, Ormond D, Price C, Rabbinowitsch E, Rutter S, Sanders M, Saunders D, Seeger K, Sharp S, Simmonds M, Skelton J, Squares R, Squares S, Stevens K, Unwin L, Whitehead S, Barrell BG, Maskell DJ. 2003. Comparative analysis of the genome sequences of *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* and *Bordetella bronchiseptica*. Nat Genet 35:32-40.
- Pittet LF, Emonet S, Schrenzel J, Siegrist CA, Posfay-Barbe KM. 2014. *Bordetella holmesii*: an under-recognised *Bordetella* species. Lancet Infect Dis 14:510-519.
- Porter JF, Parton R, Wardlaw AC. 1991. Growth and survival of *Bordetella bronchiseptica* in natural waters and in buffered saline without added nutrients. Appl Environ Microbiol 57:1202-1206.
- Preston A, Parkhill J, Maskell DJ. 2004. The *Bordetellae*: lessons from genomics. Nat Rev Microbiol 2:379-390.
- Raffel TR, Register KB, Marks SA, Temple L. 2002. Prevalence of *Bordetella avium* infection in selected wild and domesticated birds in the eastern USA. J Wildl Dis 38:40-46.
- Register KB, Kunkle RA. 2009. Strain-specific virulence of *Bordetella hinzii* in poultry. Avian Dis 53:50-54.
- Register KB, Sacco RE, Nordholm GE. 2003. Comparison of ribotyping and restriction enzyme analysis for inter- and intraspecies discrimination of *Bordetella avium* and *Bordetella hinzii*. J Clin Microbiol 41:1512-1519.
- Roberts M, Fairweather NF, Leininger E, Pickard D, Hewlett EL, Robinson A, Hayward C, Dougan G, Charles IG. 1991. Construction and characterization of *Bordetella pertussis* mutants lacking the vir-regulated P.69 outer membrane protein. Mol Microbiol 5:1393-1404.
- Rodgers L, Martin SW, Cohn A, Budd J, Marcon M, Terranella A, Mandal S, Salamon D, Leber A, Tondella ML, Tatti K, Spicer K, Emanuel A, Koch E, McGlone L, Pawloski L, Lemaile-Williams M, Tucker N, Iyer R, Clark TA, Diorio M. 2013. Epidemiologic and laboratory features of a large outbreak of pertussis-like illnesses associated with cocirculating *Bordetella holmesii* and *Bordetella pertussis* - Ohio, 2010-2011. Clin Infect Dis 56:322-331.
- Roop RM, 2nd, Veit HP, Sinsky RJ, Veit SP, Hewlett EL, Kornegay ET. 1987. Virulence factors of *Bordetella bronchiseptica* associated with the production of infectious atrophic rhinitis and pneumonia in experimentally infected neonatal swine. Infect Immun 55:217-222.

- Russell FM, Davis JM, Whipp MJ, Janssen PH, Ward PB, Vyas JR, Starr M, Sawyer SM, Curtis N. 2001. Severe *Bordetella holmesii* infection in a previously healthy adolescent confirmed by gene sequence analysis. *Clin Infect Dis* 33:129-130.
- Sebahia M, Preston A, Maskell DJ, Kuzmiak H, Connell TD, King ND, Orndorff PE, Miyamoto DM, Thomson NR, Harris D, Goble A, Lord A, Murphy L, Quail MA, Rutter S, Squares R, Squares S, Woodward J, Parkhill J, Temple LM. 2006. Comparison of the genome sequence of the poultry pathogen *Bordetella avium* with those of *B. bronchiseptica*, *B. pertussis*, and *B. parapertussis* reveals extensive diversity in surface structures associated with host interaction. *J Bacteriol* 188:6002-6015.
- Shepard CW, Daneshvar MI, Kaiser RM, Ashford DA, Lonsway D, Patel JB, Morey RE, Jordan JG, Weyant RS, Fischer M. 2004. *Bordetella holmesii* bacteremia: a newly recognized clinical entity among asplenic patients. *Clin Infect Dis* 38:799-804.
- Simmons DG, Dees C, Rose LP. 1986. A heat-stable toxin isolated from the turkey coryza agent, *Bordetella avium*. *Avian Dis* 30:761-765.
- Simmons DG, Gore AR, Hodgins EC. 1980. Altered immune function in turkey poult infected with *Alcaligenes faecalis*, the etiologic agent of turkey rhinotracheitis (coryza). *Avian Dis* 24:702-714.
- Snyder SB, Fisk SK, Fox JG, Soave OA. 1973. Respiratory tract disease associated with *Bordetella bronchiseptica* infection in cats. *J Am Vet Med Assoc* 163:293-294.
- Soloaga RN, Carrion NA, Almuzara M, Barberis C, Pidone JC, Guelfand LI, Vay C. 2013. *Bordetella holmesii* endocarditis in an asplenic patient. *Rev Argent Microbiol* 45:86-88.
- Spears PA, Temple LM, Miyamoto DM, Maskell DJ, Orndorff PE. 2003. Unexpected similarities between *Bordetella avium* and other pathogenic *Bordetellae*. *Infect Immun* 71:2591-2597.
- Spilker T, Leber AL, Marcon MJ, Newton DW, Darrah R, Vandamme P, Lipuma JJ. 2014. A simplified sequence-based identification scheme for *Bordetella* reveals several putative novel species. *J Clin Microbiol* 52:674-677.
- Spilker T, Liwienski AA, LiPuma JJ. 2008. Identification of *Bordetella* spp. in respiratory specimens from individuals with cystic fibrosis. *Clin Microbiol Infect* 14:504-506.
- Standards Unit Microbiology Services, Public Health England. 2014. Identification of *Bordetella* species. UK Standards for Microbiology Investigations. 1-22.
- Stark D, Riley LA, Harkness J, Marriott D. 2007. *Bordetella petrii* from a clinical sample in Australia: isolation and molecular identification. *J Med Microbiol* 56:435-437.
- Tang YW, Hopkins MK, Kolbert CP, Hartley PA, Severance PJ, Persing DH. 1998. *Bordetella holmesii*-like organisms associated with septicemia, endocarditis, and respiratory failure. *Clin Infect Dis* 26:389-392.
- Tartof SY, Gounder P, Weiss D, Lee L, Cassidy PK, Clark TA, Briere EC. 2014. *Bordetella holmesii* bacteremia cases in the United States, April 2010-January 2011. *Clin Infect Dis* 58:e39-43.

- Thompson H, McCandlish IA, Wright NG. 1976. Experimental respiratory disease in dogs due to *Bordetella bronchiseptica*. Res Vet Sci 20:16-23.
- Thompson H, Wright NG, Cornwell HJ. 1975. Contagious Respiratory Disease in Dogs. The Veterinary Bulletin 45.
- Tuomanen EI, Nedelman J, Hendley JO, Hewlett EL. 1983. Species specificity of *Bordetella* adherence to human and animal ciliated respiratory epithelial cells. Infect Immun 42:692-695.
- Van Balen T, Nieman AE, Hermans MH, Schneeberger PM, de Vries E. 2012. *Bordetella holmesii* meningitis in a 12-year-old anorectic girl. Pediatr Infect Dis J 31:421-422.
- van den Berg BM, Beekhuizen H, Willems RJ, Mooi FR, van Furth R. 1999. Role of *Bordetella pertussis* virulence factors in adherence to epithelial cell lines derived from the human respiratory tract. Infect Immun 67:1056-1062.
- van der Zee A, Mooi F, Van Embden J, Musser J. 1997. Molecular evolution and host adaptation of *Bordetella* spp.: phylogenetic analysis using multilocus enzyme electrophoresis and typing with three insertion sequences. J Bacteriol 179:6609-6617.
- Vandamme P, Heyndrickx M, Vancanneyt M, Hoste B, De Vos P, Falsen E, Kersters K, Hinz KH. 1996. *Bordetella trematum* sp. nov., isolated from wounds and ear infections in humans, and reassessment of *Alcaligenes denitrificans* Ruger and Tan 1983. Int J Syst Bacteriol 46:849-858.
- Vandamme P, Hommez J, Vancanneyt M, Monsieurs M, Hoste B, Cookson B, Wirsing von Konig CH, Kersters K, Blackall PJ. 1995. *Bordetella hinzii* sp. nov., isolated from poultry and humans. Int J Syst Bacteriol 45:37-45.
- Vojtova-Vodolanova J, Basler M, Osicka R, Knapp O, Maier E, Cerny J, Benada O, Benz R, Sebo P. 2009. Oligomerization is involved in pore formation by *Bordetella* adenylate cyclase toxin. FASEB J 23:2831-2843.
- von Wintzingerode F, Gerlach G, Schneider B, Gross R. 2002. Phylogenetic relationships and virulence evolution in the genus *Bordetella*. Curr Top Microbiol Immunol 264:177-199.
- von Wintzingerode F, Schattke A, Siddiqui RA, Rosick U, Gobel UB, Gross R. 2001. *Bordetella petrii* sp. nov., isolated from an anaerobic bioreactor, and emended description of the genus *Bordetella*. Int J Syst Evol Microbiol 51:1257-1265.
- Wallihan R, Selvarangan R, Marcon M, Koranyi K, Spicer K, Jackson MA. 2013. *Bordetella parapertussis* bacteremia: two case reports. Pediatr Infect Dis J 32:796-798.
- Wang Z, Li Y, Hou T, Liu X, Liu Y, Yu T, Chen Z, Gao Y, Li H, He Q. 2013. Appearance of macrolide-resistant *Bordetella pertussis* strains in China. Antimicrob Agents Chemother 57:5193-5194.
- Weiss AA, Goodwin MS. 1989. Lethal infection by *Bordetella pertussis* mutants in the infant mouse model. Infect Immun 57:3757-3764.
- Weiss AA, Hewlett EL, Myers GA, Falkow S. 1984. Pertussis toxin and extracytoplasmic adenylate cyclase as virulence factors of *Bordetella pertussis*. J Infect Dis 150:219-222.

- Wernli D, Emonet S, Schrenzel J, Harbarth S. 2011. Evaluation of eight cases of confirmed *Bordetella bronchiseptica* infection and colonization over a 15-year period. *Clin Microbiol Infect* 17:201-203.
- Weyant RS, Hollis DG, Weaver RE, Amin MF, Steigerwalt AG, O'Connor SP, Whitney AM, Daneshvar MI, Moss CW, Brenner DJ. 1995. *Bordetella holmesii* sp. nov., a new gram-negative species associated with septicemia. *J Clin Microbiol* 33:1-7.
- Wilson R, Read R, Thomas M, Rutman A, Harrison K, Lund V, Cookson B, Goldman W, Lambert H, Cole P. 1991. Effects of *Bordetella pertussis* infection on human respiratory epithelium *in vivo* and *in vitro*. *Infect Immun* 59:337-345.
- Woolfrey BF, Moody JA. 1991. Human infections associated with *Bordetella bronchiseptica*. *Clin Microbiol Rev* 4:243-255.
- Wright NG, Thompson H, Taylor D, Cornwell HJ. 1973. *Bordetella bronchiseptica*: a re-assessment of its role in canine respiratory disease. *Vet Rec* 93:486-487.
- Yabuuchi E, Kawamura Y, Kosako Y, Ezaki T. 1998. Emendation of genus *Achromobacter* and *Achromobacter xylosoxidans* (Yabuuchi and Yano) and proposal of *Achromobacter ruhlandii* (Packer and Vishniac) comb. nov., *Achromobacter piechaudii* (Kiredjian et al.) comb. nov., and *Achromobacter xylosoxidans* subsp. *denitrificans* (Ruger and Tan) comb. nov. *Microbiol Immunol* 42:429-438.
- Yacoub AT, Katayama M, Tran J, Zadikany R, Kandula M, Greene J. 2014. *Bordetella bronchiseptica* in the immunosuppressed population - a case series and review. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 6:e2014031.
- Yih WK, Silva EA, Ida J, Harrington N, Lett SM, George H. 1999. *Bordetella holmesii*-like organisms isolated from Massachusetts patients with pertussis-like symptoms. *Emerg Infect Dis* 5:441-443.
- Yoda H, Nakagawa M, Muto T, Imaizumi K. 1972. Development of resistance to reinfection of *Bordetella bronchiseptica* in guinea pigs recovered from natural infection. *Nihon Juigaku Zasshi* 34:191-196.
- Yuk MH, Harvill ET, Cotter PA, Miller JF. 2000. Modulation of host immune responses, induction of apoptosis and inhibition of NF-kappaB activation by the *Bordetella* type III secretion system. *Mol Microbiol* 35:991-1004.
- Yuk MH, Harvill ET, Miller JF. 1998. The BvgAS virulence control system regulates type III secretion in *Bordetella bronchiseptica*. *Mol Microbiol* 28:945-959.

# Le genre *Bordetella* : Portrait de famille

## De la phylogénie à la pathogénie

---

### RESUME :

Le genre *Bordetella* appartient à la famille des Alcaligenaceae, et comprend neuf espèces. *B. pertussis*, *B. parapertussis*, les agents de la coqueluche, et *B. bronchiseptica*, pathogène chez les mammifères, appartiennent aux *Bordetella* "classiques". Six nouvelles espèces isolées chez l'Homme ont été mises en évidence ces dernières décennies. *B. holmesii*, isolée uniquement chez l'Homme, est responsable d'infections invasives et de pseudo-coqueluche. *B. avium* et *B. hinzii* sont des pathogènes principalement aviaires alors que *B. petrii* est l'unique espèce environnementale. Enfin, le réservoir et la pathogénicité de *B. trematum* et *B. ansorpii* restent à définir.

Le genre *Bordetella* aurait évolué à partir d'une espèce environnementale apparentée à *B. petrii* jusqu'à *B. pertussis*, pathogène strictement humain. La restriction de niche écologique et l'adaptation à l'hôte s'expliquent par deux principaux mécanismes : une réduction du génome aboutissant à une perte de fonctions, majoritairement impliquées dans le métabolisme, et l'acquisition de facteurs de virulence dont l'expression est orchestrée par le système de régulation BvgAS.

---

### The *Bordetella* genus : a family portrait. From phylogeny to pathogeny.

The genus *Bordetella* belongs to the Alcaligenaceae family, and is composed of nine species. *B. pertussis* and *B. parapertussis*, both causal agents of whooping cough, and *B. bronchiseptica*, which is pathogen in mammals, can be classified as « classical » *Bordetella*. Six new species isolated in Humans have been identified in the last decades. *B. holmesii*, only isolated in Humans, is responsible for invasive infections and pertussis-like infections. *B. avium* and *B. hinzii* are mainly avian pathogens, whereas *B. petrii* is the only environmental species. Finally, the reservoir and the pathogenicity of both *B. trematum* et *B. ansorpii* still need to be defined.

The *Bordetella* genus could have evolved from an environmental species related to *B. petrii*, to *B. pertussis*, a strictly human pathogen. The ecological niche restriction and the adaptation to the host can be explained by two main mechanisms: a genome reduction, leading to a loss of metabolic functions, and the acquisition of virulence factors, whose expression is orchestrated by the two component BvgAS system.

---

DISCIPLINE administrative : Biologie médicale

---

MOTS-CLES : *Bordetella*, phylogénie, pathogénie, facteurs de virulence, adaptation à l'hôte

---

Institut Pasteur  
Unité Prévention et Thérapies Moléculaires des Maladies Humaines  
Centre National de Référence de la Coqueluche et des autres Bordetelloses  
25-28 rue du Docteur Roux  
75724 Paris Cedex 15

Laboratoire de Biologie Médicale  
Centre Hospitalier Jean Rougier  
335, rue du Président Wilson  
46005 Cahors Cedex 9

Directeurs de thèse : Docteur Nicole GUIISO et Docteur Alain LE COUSTUMIER