

Prévalence de *Bordetella holmesii* dans les prélèvements de patients présentant un tableau de coqueluche



V. Jacomo, O. Schaal, G. A. Denoyel
Département des maladies infectieuses, Laboratoire Biomnis, Lyon

ABSTRACT

Bordetella holmesii est un agent infectieux potentiellement responsable d'un tableau clinique de type coqueluche, et ayant fait l'objet de nombreuses investigations dans la littérature. Sa prévalence est très variable selon les pays et les populations ciblées, s'échelonnant de 0 à plus de 20 %. Nous avons voulu estimer la prévalence de cette bactérie dans les prélèvements de patients suspectés de coqueluche par PCR en temps réel spécifique de *Bordetella pertussis* et de *Bordetella holmesii*.

1027 échantillons positifs par PCR de la séquence d'insertion IS 481 ont été évalués par PCR de l'insertion IS 1001-like spécifique de *Bordetella holmesii*.

3 se sont avérés positifs (0.29 %) pour cette bactérie.

Différentes hypothèses pouvant expliquer la variabilité du nombre de cas positifs sont à explorer.

INTRODUCTION

Bordetella holmesii est un agent pathogène initialement retrouvé chez des patients immunodéprimés aspléniques, avec essentiellement comme manifestation clinique un syndrome septicémique (1, 2) *B. holmesii* a également été retrouvé dans des prélèvements nasopharyngés de patients présentant une symptomatologie à type de toux prolongée compatible avec une coqueluche. De nombreuses études ont été menées sur des prélèvements positifs

pour *Bordetella pertussis* par PCR en temps réel sur la séquence d'insertion IS 481.

Selon les pays et les études, la prévalence des PCR positives à *B. holmesii* parmi la population suspecte de coqueluche est très variable.

Nous avons étudié cette prévalence sur une période de 6 mois sur les échantillons nasopharyngés ou bronchiques de la population de patients présentant une PCR positive pour *B. pertussis*.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

1027 prélèvements positifs pour une PCR spécifique de *B. pertussis* portant sur l'IS 481 sont analysés par une PCR ciblant la séquence d'insertion IS 1001-like spécifique de *B. holmesii*.

L'extraction de l'ADN a été réalisée à partir d'une prise d'essai de 200µl et d'un volume d'éluat de 100µl grâce au protocole « DNA and VIRAL SMALL VOLUME KIT/Protocole PATHOGEN UNIVERSAL 200 SV 2.0 » et au réactif « MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit » sur automate MagNA Pure 96 (Roche®).

| PCR | Amorces/sondes | Séquence |
|--------------|----------------|----------------------------------|
| IS 481 | BGIS481-FW | 5'-TCCGAACCGGATTGAGAAAC |
| | BGIS481-RV | 5'-GGTCAATCGGGCATGCTTA- |
| | BGIS481-PRO | AATGCCAACCCAGTTCACTCA-VIC-MGB |
| IS 1001-like | BH 1001-FW | 5'-GGCGACAGCGAGACAGAATC |
| | BH 1001-RV | 5'-CACTTCGCGCTCAAGCTAAA |
| | BH 1001-PRO' | 5'-CGTGCAGATAGG C -FAM |
| Phage M13 | M13FW2 | 5'-GGGCCAGGCGGTGAAG |
| | M13RV2 | 5'-GCCAGGGTGGTTTTCTTTTC |
| | PRO2 | 5'-CAATCAGCTGTGCCGTCTCGC-Cy5-BHQ |

Tableau 1 : Sondes et amorces pour les PCR IS 481 et IS 1001-like

Les amorces pour la séquence IS 1001-like, IS481 ainsi que pour le contrôle d'extraction et d'amplification (bactériophage ADN M13mp18) sont décrites dans le **tableau 1**.

Les PCR sont réalisées indifféremment sur les thermocyclers Applied Biosystems ABI 7000 et ABI 7500 (**Figure 1**).

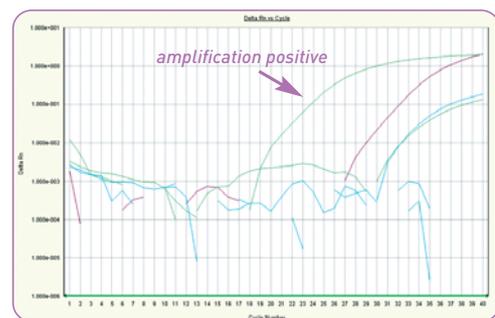


Figure 1 : Exemple de profil d'amplification obtenu.

RÉSULTATS

Sur les 1027 prélèvements positifs pour la recherche de *Bordetella pertussis* par PCR portant sur la séquence d'insertion IS 481, seuls 3 prélèvements (Ecouvillon nasopharyngé) se sont révélés positifs pour la PCR IS 1001-like, portant la prévalence de *Bordetella holmesii* dans la population étudiée à 0.29 % sur la période des 6 mois testée. Les caractéristiques des 3 patients, toutes trois de sexe féminin, sont résumées dans le **tableau 2**. Le trop faible nombre de PCR positive ne nous permet pas de dégager une répartition saisonnière ; néanmoins 2 sur 3 prélèvements ont été réalisés au mois de Juillet.

| | Age | Nature de prélèvement | Période | Département d'origine | Valeur du Ct échantillon | Valeur du Ct du contrôle |
|-------------|--------|-------------------------|---------|-----------------------|--------------------------|--------------------------|
| Patient N°1 | 42 ans | Ecouvillon nasopharyngé | Juillet | Vendée | 21.5 | 33 |
| Patient N°2 | 22 ans | Ecouvillon nasopharyngé | Juillet | Jura | 32 | 33.36 |
| Patient N°3 | 43 ans | Ecouvillon nasopharyngé | Avril | Ardèche | 31.03 | 35 |

Tableau 2 : Résumé des résultats positifs pour la PCR *B. holmesii*

DISCUSSION

Les résultats sont très contradictoires selon les populations étudiées : dans une étude portant sur les populations Finoise et Néerlandaise, il n'y a aucun cas retrouvé. L'étude de Guthrie *et al* ciblant le gène recA (3) réalisée en Ontario, Canada met en évidence une prévalence < 1 % alors que l'étude en France de Njamkepo révèle une prévalence de 20.3 % dans la population d'adulte et enfant de plus de 9 ans (2) ce que confirme l'étude de Miranda et al au Chili avec une prévalence de 11.1 % (8). Toutes ces études ciblent cependant le même gène recA spécifique de *Bordetella holmesii*, à l'exception de l'étude portant sur la population néerlandaise ciblant la même séquence d'insertion IS 1001-like que dans notre étude.

Bordetella holmesii est une bactérie proche de *B. pertussis* et a été décrit comme un agent responsable de toux prolongée coqueluchoïde dans plusieurs publications. Le génome de *B. holmesii* contient les insertions IS 481 et IS 1001-like au nombre de 3 à 10 copies selon les études (6,7). Ceci a conduit à l'hypothèse qu'un certain nombre de faux positifs de la PCR coqueluche pouvaient en réalité être dus à *B. holmesii*, mais pourrait également être responsable de formes plus modérées de syndromes coqueluchoïdes. Pour certains auteurs, la possibilité d'un rôle opportuniste de *B. holmesii* est envisageable, ou encore sa présence pourrait n'être qu'une colonisation des voies respiratoires (4).

RÉFÉRENCES

- Weyant *et al*. *Bordetella holmesii* sp.nov. a new gram-negative species associated with septicemia. *J. Clin. Microbiol* 1995; 33:1-7
- Njamkepo E. *et al*, Significant findings of *Bordetella holmesii* DNA in nasopharyngeal samples from French patients with suspected pertussis. *J. Clin Microbiol* Dec 2011, 40(12) : 4347-4348
- JL Guthrie *et al*. Novel duplex real time PCR assay detects *Bordetella holmesii* in specimens from patients with pertussis-like symptoms in Ontario, Canada. *JCM* 2010, 48(4) : 1435-1437
- Yih *et al*. *Bordetella holmesii*-like organisms isolated from Massachusetts patients with pertussis-like symptoms. *Emerging Infectious Diseases* 1999; 5 (3): 441-443
- Tatti *et al*. Novel multitarget Real-Time PCR Assay for rapid detection of *Bordetella* species in clinical specimens 2011 *JCM* 49 (12): 4059-4066
- Antila *et al* *Bordetella holmesii* DNA is not detected in nasopharyngeal swabs from Finnish and Dutch patients with suspected pertussis. *Journal of medical Microbiology* 2006 (55) 1043-1051
- Reischl *et al* 2001, Real time PCR assay targeting IS 481 of *Bordetella pertussis* and molecular basis for detecting *Bordetella holmesii*. *JCM* 39 : 1963-1966.
- Miranda *et al*. 2012 *Bordetella holmesii* in nasopharyngeal samples from Chilean patients with suspected *Bordetella pertussis* infection. *J clin Microbiol* 105.