

1887-2017 : DE « *MICROCOCCUS MELITENSIS* » AUX *BRUCELLA* DES GRENOUILLES. UN RETOUR AUX SOURCES ?

Garin-Bastuji Bruno¹



RÉSUMÉ

Alors que la classification des *Brucella* était restée inchangée depuis les années 1970, de « nouvelles » espèces sont venues compléter la liste des souches dites « classiques » de *Brucella* depuis les années 2000. Contrairement à ces dernières, qui regroupent les *Brucella* d'importance majeure en santé animale et en santé publique (*B. abortus*, *B. melitensis* et *B. suis*) ainsi que *B. canis*, *B. ovis* et *B. neotomae*, et qui sont zoonotiques (à l'exception de *B. ovis*) et ont pour espèce-hôte préférentielle une espèce domestique, les « nouvelles » *Brucella* ont été isolées majoritairement d'espèces animales sauvages variées : *B. ceti* et *B. pinnipedialis* de mammifères marins, *B. microti* de rongeurs sauvages (mais aussi du Renard roux et du sol), *B. vulpis* du Renard roux. D'autres souches ont été isolées soit uniquement de patients humains (*B. inopinata* et *B. inopinata-like*), du Babouin (*B. papionis*), de rongeurs ou d'amphibiens sauvages, sans autre réservoir connu. Bien que la classification ne soit pas encore stabilisée et que toutes les espèces ne soient pas encore bien définies, on sait aujourd'hui que plusieurs de ces « nouvelles » *Brucella*, dites « atypiques », sont apparentées entre elles et correspondent probablement à un stade d'évolution du genre antérieur à une adaptation des *Brucella* à un hôte préférentiel terrestre (ruminants et chien domestique) ou marin (cétacés et pinnipèdes).

Mots-clés : *Brucella*, taxonomie, nouvelles espèces, phylogénie, épidémiologie, revue.

ABSTRACT

While the classification of *Brucella* had remained unchanged since the seventies, "new" species have been added to the list of "classical" *Brucella* since the 2000's. While the latter, which include the most important *Brucella* in terms of animal and public health (*B. abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*) as well as *B. canis*, *B. ovis* and *B. neotomae*, have a zoonotic potential (except *B. ovis*) and have a domestic species as a preferred host, the "new" *Brucella* have been essentially isolated from various wild animal species: *B. ceti* and *B. pinnipedialis* from marine mammals, *B. microti* from wild rodents (as well as red fox and soil), *B. vulpis* from red fox. Other strains have been isolated either only from human patients (*B. inopinata* and *B. inopinata-like*), from baboon (*B. papionis*), or wild rodents or amphibians, with no other reservoir yet known. While the classification is not stabilised and all species well defined yet, it has been established that some of these "new" *Brucella*, also called "atypical" *Brucella*, belong to the same group and correspond probably to an evolution step of the genus predating the *Brucella* adaptation to a preferred terrestrial (ruminants and dog) or marine (cetaceans and pinnipeds) host.

Keywords: *Brucella*, Taxonomy, New species, Phylogeny, Epidemiology, Review.



¹ ANSES, 14 rue Pierre et Marie Curie, 94701 Maisons-Alfort Cedex, France

La brucellose, due à certaines espèces des bactéries du genre *Brucella*, demeure une zoonose d'importance mondiale, à impact sanitaire notable, tant chez l'Homme que l'animal, dans de nombreuses régions du globe : Amérique latine, Afrique, Moyen-Orient, Europe du sud et une large partie de l'Asie [Pappas *et al.*, 2006].

Bien que l'agent de la fièvre de Malte² ait été identifié dès 1887 sous le nom de *Micrococcus melitensis* [Bruce, 1887], le genre *Brucella* n'a été établi qu'en 1920 par Meyer et Shaw [1920], avec *B. melitensis* (infectant l'Homme et la Chèvre) comme espèce type et *B. abortus* (infectant les bovins) comme seconde espèce.

De sa formation en 1920 jusqu'aux années 60, le genre *Brucella* n'a connu qu'une nouvelle espèce, en l'occurrence *B. suis* isolée du Porc (1929) [Huddleson, 1929]. Composé ainsi des 3 espèces, fréquemment citées comme « espèces classiques », le genre est resté stable, malgré de nombreuses discussions entre scientifiques sur la place et le nombre de telle espèce ou de tel biovar [Scholz et Vergnaud, 2013].

D'autres espèces ont ensuite été intégrées au genre : *B. ovis* isolée du Mouton en Nouvelle-Zélande (1956) [Buddle, 1956] puis *B. neotomae* isolée d'un rongeur nord-américain, le Néotome du désert (*Neotoma lepida*) en 1957 [Stoener et Lackman, 1957] et enfin *B. canis*, isolée du Chien en 1968 [Carmichael et Bruner, 1968] ; mais uniquement après de nombreuses discussions sur la définition du genre qui impliquait alors certaines caractéristiques métaboliques et surtout un caractère lisse des colonies (ce qui n'est le cas ni pour *B. ovis* ni pour *B. canis*) et un potentiel zoonotique (ce qui n'est pas le cas pour *B. ovis*). En fait, si *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. ovis*, *B. canis* et les biovars 1 à 4 de *B. suis* ont une réelle importance épidémiologique et sont retrouvés à différents endroits du globe, *B. neotomae* n'a été isolée qu'à une seule occasion dans l'Utah (États-Unis d'Amérique [É.-U.]).

Bien que de premières études utilisant l'hybridation ADN-ADN aient été publiées en 1968 [Hoyer et McCullough, 1968] et aient suggéré la forte

proximité génétique entre toutes ces espèces, il fallut attendre les années 1980, avec les travaux de Verger *et al.* [1985] et de De Ley *et al.* [1987], pour que ces espèces soient considérées suffisamment similaires au plan génétique pour ne former qu'une seule espèce bactérienne *stricto sensu*. Néanmoins, du fait de la très forte spécificité de chacune des espèces historiques de *Brucella*, tant en matière de tropisme d'hôte, de phénotype, d'expression pathologique et de pathogénicité, le Comité international de taxonomie n'a pas souhaité revenir sur l'ancienne classification fondée sur la spécificité d'hôte [ICSB, 1988] et c'est encore aujourd'hui celle qui prévaut (tableau 1). Cette décision permettait d'éviter la confusion, en maintenant des définitions d'« espèces » fondées sur leur spécificité d'hôte, leur pathogénicité et leur transmissibilité. Elle répondait également à la règle du « *Nomen periculosum* »³, privilégiant la biosécurité sur tout autre argument taxonomique dans la nomenclature [Judicial Commission, 1985] et anticipait la résistance probable des microbiologistes médicaux et vétérinaires comme des autorités de santé publique, à adopter le concept d'espèce unique pour le genre *Brucella*.

1. LE GENRE *BRUCELLA* (définition classique)

Les membres du genre *Brucella* sont des coccobacilles à Gram négatif, aérobies, immobiles, ne formant pas de spore, de culture plutôt lente et fastidieuse ; les *Brucella* peuvent survivre plusieurs semaines à mois dans l'environnement en conditions favorables, mais leur niche préférentielle est intracellulaire.

Ces bactéries appartiennent à la famille des *Brucellaceae*⁴, dans l'ordre des Rhizobiales, lui-même inclus dans la classe des Alphaprotéobactéries. De manière singulière, bien que toutes les espèces de *Brucella* soient des agents pathogènes intracellulaires pour les animaux, elles présentent une proximité étroite avec des microorganismes du sol (par ex. *Ochrobactrum* spp.), des organismes symbiontes de plantes (par ex. *Rhizobium* spp.) voire des bactéries pathogènes pour les végétaux (par ex. *Agrobacterium* spp.).

² Nom historique le plus communément utilisé de la brucellose humaine (en particulier les formes dues à *B. melitensis* – « de Malte » en latin).

³ « Nom dangereux » : Principe du Code international de la nomenclature des bactéries, qui exclut la possibilité de changer le nom d'une espèce connue comme virulente ou toxigène, quand ce changement peut être à l'origine d'un danger pour la santé ou la vie ; par exemple pour une sous-espèce ayant un hôte différent ou un degré de virulence différent.

⁴ Famille qui inclut, outre *Brucella*, *Crabtreeella*, *Daeguia*, *Mycoplana*, *Ochrobactrum* et *Pseudochrobactrum*.

Le genre *Ochrobactrum*, qui regroupe des espèces en nombre croissant, généralement isolées de l'environnement, et qui est parfois un agent pathogène opportuniste pour l'Homme, est celui qui, aux plans phénotypique et génétique, est le plus proche des *Brucella* [Whatmore, 2009].

2. LES « NOUVELLES » BRUCELLA. ASPECTS ÉPIDÉMIOLOGIQUES

Après de nombreuses années sans évolution, plusieurs espèces sont venues s'ajouter, dans le courant des années 1990 et au début des années 2000, à la liste des membres du genre *Brucella* et il est probable que d'autres membres viennent les rejoindre dans les prochaines années, compte tenu des techniques moléculaires désormais disponibles qui permettent d'identifier rapidement les nouvelles espèces. Il est ainsi probable que le genre *Brucella* ne reste pas longtemps confiné au monde des animaux domestiques, de rente ou de compagnie.

2.1 BRUCELLA CETI ET B. PINNIPEDIALIS

L'isolement inattendu de *Brucella* à partir de mammifères marins a été rapporté pour la première fois et simultanément en 1994, en deux endroits différents du globe, à partir de phoques veaux marins (*Phoca vitulina*), d'un marsouin commun

(*Phocoena phocoena*) et d'un dauphin commun (*Delphinus delphis*) échoués sur les côtes écossaises [Ross *et al.*, 1994] et, à l'occasion d'un avortement, à partir d'un fœtus de grand dauphin commun (*Tursiops truncatus*) en captivité aux É.-U. [Ewalt *et al.*, 1994]. Depuis, des isollements de *Brucella* similaires ont été rapportés en de multiples endroits du globe, hémisphère nord en particulier⁵ et à partir de multiples espèces de mammifères marins, cétacés et pinnipèdes⁶ [Foster *et al.*, 2002]. Des réactions sérologiques positives, avec ou sans isolement de *Brucella*, ont également été rapportées, par la suite, y compris dans l'hémisphère sud⁷ et à partir des mêmes ou d'autres espèces⁸ [Dawson *et al.*, 2008 ; Ohishi *et al.*, 2007 ; Lynch *et al.*, 2011 ; Guzman-Verri *et al.*, 2012 ; Foster *et al.*, 2015].

Plus récemment, à partir d'un nombre limité de souches isolées de mammifères marins, il a été possible, sur la base de caractéristiques phénotypiques et génétiques, d'identifier deux espèces distinctes : *Brucella ceti* (isolé principalement de cétacés, tout particulièrement marsouins et dauphins) et *B. pinnipedialis* (isolé principalement de pinnipèdes, phoques surtout) [Foster *et al.*, 2007]. *B. ceti* est elle-même divisée génétiquement en deux clades⁹, l'un plutôt associé aux dauphins et l'autre aux marsouins [Whatmore *et al.*, 2017].

⁵ Côtes anglaises, écossaises et galloises ; Atlantique nord ; de l'Ouest de l'Islande au nord de la Norvège et de la Russie, Mer méditerranée, Arctique canadien.

⁶ en particulier Dauphin bleu et blanc (*Stenella coeruleoalba*), Lagénorhynque à flancs blancs (*Lagenorhynchus acutus*), Petit rorqual (*Balaenoptera acutorostrata*), Otarie de Californie (*Zalophus californianus*), Phoque annelé (*Pusa hispida*), Phoque à capuchon (*Cystophora cristata*), Phoque gris (*Halichoerus grypus*), Phoque du Groenland (*Pagophilus groenlandicus*), Phoque veau marin du Pacifique-Est (*Phoca vitulina richardii*) et Loutre européenne (*Lutra lutra*).

⁷ Pacifique Nord-ouest et Amérique Centrale ; Côtes péruviennes ; Côtes pacifiques du Japon ; Nord-ouest d'Hawaï ; Iles Salomon ; Antarctique et Australie.

⁸ Baleine à bec de Sowerby (*Mesoplodon bidens*), Baleine de Cuvier (*Ziphius cavirostris*), Baleine franche australe (*Eubalaena australis*), Beluga (*Delphinapterus leucas*), Cachalot pygmée (*Kogia breviceps*), Lagénorhynque à flancs blancs (*Lagenorhynchus acutus*), Lagénorhynque à bec blanc (*Lagenorhynchus albirostris*), Dauphin à long bec (*Stenella longirostris*), Dauphin commun à long bec (*Delphinus capensis*), Dauphin d'Hector (*Cephalorhynchus hectori*), Lagénorhynque obscur (*Lagenorhynchus obscurus*), Dauphin de Risso (*Grampus griseus*), Dauphin tacheté pantropical (*Stenella attenuata*), Globicéphale commun (*Globicephala melas*), Grand dauphin de l'océan Indien (*Tursiops aduncus*), Marsouin de Burmeister (*Phocoena spinipinnis*), Narval (*Monodon monoceros*), Orque (*Orcinus orca*), Orque pygmée (*Feresa attenuata*), Otarie à fourrure d'Australie (*Arctocephalus pusillus doriferus*), Otarie de Kerguelen (*Arctocephalus gazella*), Phoque moine d'Hawaï (*Monachus schauinslandii*), Phoque de Weddell (*Leptonychotes weddellii*), Rorqual de Bryde (*Balaenoptera edeni*), Rorqual de Rudolphi (*Balaenoptera borealis*), Rorqual commun (*Balaenoptera physalus*).

⁹ Le clade est l'unité de base de la classification phylogénétique ou cladisme, qui remplace peu à peu la classification linnéenne (ou traditionnelle) qui assignait des rangs taxonomiques à la classification des êtres vivants (classes, ordres, familles, etc.), sur des bases principalement de similarités morphologiques. Groupe de taxons ayant une origine phylétique commune (un ancêtre commun - monophylétique), le clade contient cet ancêtre commun et la totalité de ses descendants (<https://en.wikipedia.org/wiki/Clade>).

Cependant, comme pour les *Brucella* isolées d'espèces terrestres, la spécificité d'hôte n'est pas exclusive, l'une ou l'autre espèce de *Brucella* ayant pu être isolée de pinnipèdes ou de cétacés. Enfin, certaines souches de ces deux espèces ont un potentiel zoonotique démontré [Whatmore *et al.* 2008]. Les populations humaines à risque sont ainsi principalement les communautés dont l'alimentation est fondée sur la consommation de produits issus de baleines et de phoques, mais aussi les professionnels en charge des échouages de mammifères marins, les chasseurs de ces espèces et les chercheurs exposés aux carcasses de ces animaux [Nymo *et al.*, 2011].

D'une façon générale, aucune lésion particulière n'est observée chez les pinnipèdes lors d'infection par *B. pinnipedialis*, cette espèce pouvant néanmoins être isolée de nombreux organes d'apparence normale (testicules, utérus, glande mammaire, poumons) lors d'échouages de pinnipèdes [Godfroid *et al.*, 2012].

A l'inverse, l'infection des cétacés par *B. ceti* peut être associée à des atteintes organiques très variées : lésions cutanées, abcès sous le pannicule adipeux sous-cutané, nécrose ou infiltrations hépatique ou splénique, spondylodiscite, arthrite atlanto-occipitale ou scapulo-humérale, péritonite, endocardite, myocardite, méningite, méningoencéphalite, choroïdite, lymphadénite, endométrite parfois granulomateuse et suppurée, placentite parfois nécrotique, orchite et épидидymite parfois caséuses voire calcaires et mammite [Godfroid *et al.*, 2012 ; Foster *et al.*, 2015]. Cependant, à l'exception du Dauphin bleu et blanc (*Stenella coeruleoalba*), la fréquence des lésions observées dans les autres espèces de cétacés est plutôt faible, ce qui suggère une résistance à l'infection élevée chez la plupart de ces animaux, lesquels restent potentiellement porteurs voire excréteurs de *Brucella* [Isidoro-Ayza *et al.*, 2014].

Les modes de transmission de ces *Brucella*, intra- et interspécifiques, au sein des populations de mammifères marins, sont inconnus, d'autant qu'ils sont quasi-impossibles à investiguer. Il est probable que les *Brucella* survivent peu dans l'environnement marin, du fait notamment de l'effet de dilution. La transmission par contact, notamment sexuel ou lors de l'allaitement, est probable, d'autant que ces *Brucella* ont pu être isolées tant de l'appareil reproducteur mâle et

femelle, de la mamelle que du lait chez des cétacés infectés [Dawson *et al.*, 2008 ; Foster *et al.*, 2015]. Un autre mode de transmission, materno-fœtal, est également possible, à l'instar de ce qui est observé chez les ruminants terrestres, compte tenu de la quantité importante de *Brucella* parfois isolée à partir de fœtus ou de placentas [Foster *et al.*, 2015]. De même, il est possible que pour certaines espèces, où il est fréquent que plusieurs individus assistent de près aux naissances, des contaminations se produisent au contact de sécrétions génitales infectées. Enfin, dans la mesure où des *Brucella* marines ont pu être isolées de parasites pulmonaires chez certains cétacés (dont certains traversent la membrane placentaire) voire de poissons, ceux-ci pourraient également jouer un rôle dans le cycle de transmission [Foster *et al.*, 2015].

2.2 BRUCELLA MICROTI

Le développement des outils moléculaires de caractérisation des *Brucella* a permis en 2008 d'identifier une nouvelle espèce de *Brucella* : *Brucella microti* [Scholz *et al.*, 2008b]. Cette espèce a été isolée initialement en République Tchèque (Moravie méridionale) dans une population sauvage de Campagnol des champs (*Microtus arvalis*) atteinte d'infections aiguës caractérisées par des œdèmes des extrémités, et occasionnellement abcès et perforations de la peau abcédée, arthrite, lymphadénite, orchite et granulomes péritonéaux [Hubalek *et al.*, 2007]. La maladie avait été observée dès 1998 mais prit une allure épizootique à la jonction été-automne 1999. Huit souches bactériennes pures ont alors pu être isolées en 2000, certaines d'entre elles ayant dans un premier temps été identifiées comme *Ochrobactrum anthropi* sur la base de caractères morphologiques et biochimiques. Les outils moléculaires alors utilisés ont permis d'inclure deux des souches isolées dans le genre *Brucella*, parmi les *Brucella* d'origine terrestre, sans qu'aucune espèce existante ne soit identifiée et alors que la croissance de ces souches était particulièrement rapide sur milieux habituels comparativement aux *Brucella* déjà décrites. Ce n'est que plusieurs années plus tard que, grâce à d'autres outils moléculaires, MLST et MLVA¹⁰ notamment, la nouvelle espèce a pu être démontrée et plus complètement caractérisée [Scholz *et al.*, 2008b].

¹⁰MLST : multilocus sequence typing ; MLVA : multilocus variable number of tandem repeats (VNTR) analysis.

Par la suite, la même espèce a pu être isolée du sol à l'endroit même où avait été observée l'épizootie, mais sept ans plus tard [Scholz *et al.*, 2008a].

Certaines études moléculaires laissent aujourd'hui à penser que cette espèce (de même que le biovar 5 de *B. suis* également isolée de micromammifères rongeurs) pourrait être étroitement liée à l'ancêtre des *Brucella* [Whatmore, 2009]. Des études ultérieures ont par ailleurs montré que cette espèce présentait une pathogénicité pour la souris (dans un modèle standardisé) très supérieure à celle classiquement observée avec les autres *Brucella*, avec la tentation évidente de rapprocher cette donnée de l'épizootie soudaine observée chez le campagnol en 1999 en Moravie [Jiménez de Bagüés *et al.*, 2010]. Enfin, cette espèce a également été isolée depuis, en Autriche à partir de deux renards roux (*Vulpes vulpes*) [Scholz *et al.*, 2009] puis en Hongrie d'un sanglier (*Sus scrofa*) [Rónai *et al.*, 2015]. Dans les deux cas, les isolements ont été obtenus de nœuds lymphatiques mandibulaires, dans le cadre d'une recherche de routine de tularémie et d'infection à *B. suis* biovar 2 sur animaux chassés et, dans les deux cas, les animaux ne présentaient aucun signe pathologique. L'hypothèse a alors été émise que cette souche pourrait être répandue en Europe Centrale, que le sol en serait le réservoir et que la contamination des renards et des sangliers proviendrait sans doute de la consommation de micromammifères infectés ou du sol. Néanmoins aucun nouvel isolement n'a été rapporté depuis.

2.3 BRUCELLA INOPINATA

Deux nouvelles souches, dénommées initialement BO1 et BO2, ont été isolées respectivement en 2005, d'une prothèse mammaire chez une patiente âgée de 71 ans dans l'Oregon (É.-U.), sans aucun facteur de risque de brucellose [De *et al.*, 2008] et, en 2007 d'une biopsie pulmonaire d'un patient atteint, entre autres, de pneumonie destructrice [Tiller *et al.*, 2010b]. Les deux patients, étatsunienne pour la première et australien, né à Malte (!), pour le second, ne rapportaient aucun facteur de risque spécifique de brucellose même si le second avait voyagé régulièrement dans le monde entier. À l'instar de *B. microti*, ces deux souches, dont l'origine n'a pas, à ce jour, été élucidée, étaient phénotypiquement différentes des *Brucella* classiques (croissance rapide notamment) et avaient initialement été identifiées comme appartenant au genre *Ochrobactrum*.

BO1 a ensuite été, sur la base d'études moléculaires, intégrée au genre *Brucella*, sous le nom d'espèce *Brucella inopinata* [Scholz *et al.*, 2010], BO2 étant étiquetée comme *B. inopinata*-like.

La donnée intéressante, mise en avant par les auteurs était la proximité génétique de BO1 et BO2 avec une souche de *B. suis* 83-210 incomplètement caractérisée et isolée il y a plusieurs dizaines d'années de rongeurs sauvages en Australie (voir plus loin), évoquant la possibilité d'un ancêtre commun et suggérant que des rongeurs pouvaient constituer le réservoir de ces deux souches isolées exclusivement chez l'Homme [De *et al.*, 2008]. À noter que les deux souches BO1 et 83-210 apparaissent, à l'instar de *B. microti* et contrairement aux *Brucella* classiques, très virulentes (létales) dans le modèle souris [Jiménez de Bagüés *et al.*, 2014].

2.4 BRUCELLA PAPIONIS

Une autre souche, phénotypiquement et génétiquement différente des *Brucella* identifiées jusqu'alors, a pu être isolée en 2009 chez deux femelles babouins (*Papio spp.*) ayant produit des petits mort-nés d'un centre de primatologie aux É.-U. [Schlabritz-Loutsevitch *et al.*, 2009].

La première, âgée de 13 ans, multipare et ayant connu un avortement lors d'une gestation précédente, était issue d'une capture en Tanzanie en 1999 et présentait une rétention placentaire. Un écouvillonnage cervical a permis un isolement de *Brucella*, ce qui ne fut pas le cas de ceux réalisés sur les 16 autres femelles de la même cage, alors que trois de ces femelles avaient connu précédemment des mortalités ou des naissances avant terme. La seconde, âgée de huit ans, nullipare et hébergée dans une autre cage, était née dans le centre de primatologie. Euthanasiée un mois après la naissance du produit mort-né, elle présentait une métrite purulente dont une souche de *Brucella* a pu être isolée. Le premier animal présentait une sérologie brucellose positive mais le second non.

Ces deux souches, en tous points identiques, ont ensuite été, sur la base d'études moléculaires approfondies, intégrées au genre *Brucella*, sous le nom d'espèce *Brucella papionis* [Whatmore *et al.*, 2014]. Cependant, contrairement aux deux espèces précédentes, *B. papionis* semble proche de *B. ovis* et ses caractéristiques de croissance sont similaires à celles des *Brucella* « classiques ».

2.5 BRUCELLA VULPIS

Plus récemment, deux nouvelles souches isolées en 2008 en Autriche¹¹ de nœuds lymphatiques mandibulaires de deux renards roux (*Vulpes vulpes*) ont été apparentées aux *Brucella*, mais leurs caractéristiques phénotypiques et de premières études moléculaires les différenciaient des *Brucella* identifiées jusqu'alors [Hofer *et al.*, 2012]. Des études phénotypiques et moléculaires plus poussées, mises en œuvre par la suite, ont conduit à la définition, en 2016, d'une nouvelle espèce, en l'occurrence *Brucella vulpis* [Scholz *et al.*, 2016a]. De manière intéressante, *B. vulpis* se caractérise, entre autres, par la présence dans son génome de matériel génétique additionnel dérivé de bactéries du sol, telles qu'*Ochrobactrum*, *Paracoccus*, *Rhizobium* et *Bartonella*, suggérant, là encore, un réservoir tellurique et l'acquisition de gènes par transfert horizontal [Hofer *et al.*, 2012]. Ces auteurs estiment, sur la base des études phylogéniques, que *B. vulpis* et d'autres *Brucella* non classiques comme *B. inopinata* ou des souches encore non classées comme *B. inopinata*-like BO2 et 83-13 pourraient représenter des espèces ancestrales des *Brucella* classiques, lesquelles ont connu une réorganisation et une réduction de leur génome probablement au cours de leur adaptation à leurs hôtes spécifiques respectifs.

3. AUTRES BRUCELLA « ATYPIQUES »

D'autres souches (7 - dont la souche-type : NF2653) isolées en Australie de trois espèces autochtones de rongeurs sauvages¹² en 1964 [Cook *et al.*, 1966] et deux autres isolées probablement en 1965 (83-13 et 83-210) [Corbel et Brinley-Morgan, 1984] mais restées non totalement caractérisées depuis (identification à l'époque de *B. suis* biovar 3) ont également été récemment apparentées aux *Brucella* [Tiller *et al.*, 2010a]. Proches de BO1 et BO2, elles sont considérées comme constituant un nouveau clade séparé des *Brucella* « classiques », potentielle nouvelle espèce que certains auteurs considèrent déjà comme telle et dénomment *Brucella rodentia* [Wattam *et al.*, 2014].

4. ET LES GRENOUILLES...

Les isollements de *Brucella* à partir d'hôtes non-mammifères sont exceptionnels dans la littérature. Cependant, six publications ont récemment décrit l'isolement de *Brucella* à partir d'amphibiens :

- En 2012, en Allemagne, sur une grenouille de Tanzanie ou Rainette arboricole nocturne (Angl. : Big-eyed tree frog - *Leptopelis verniculatus*), achetée en animalerie et présentant deux abcès sous-cutanés sur le flanc dont a pu être isolée une souche (152) apparentée aux *Brucella* et proche de *B. inopinata* (BO1) [Fischer *et al.*, 2012] ;
- En 2012 toujours, en Allemagne également, sur plusieurs grenouilles-taureaux africaines naines (Angl. : African bullfrogs - *Pyxicephalus edulis*), capturées dans la nature et retrouvées mortes ou moribondes dans une quarantaine et dont on a pu isoler 13 souches (dont deux [10RB9251 et 09RB8471] ont fait l'objet d'études phénotypiques et moléculaires approfondies) apparentées aux *Brucella* proches du clade incluant *B. inopinata* BO1, *B. inopinata*-like BO2 et les souches de rongeurs australiens mentionnées plus haut. De manière surprenante, ces souches se sont avérées mobiles, ce qui n'avait jamais été décrit auparavant dans le genre *Brucella* [Eisenberg *et al.*, 2012] ;
- En 2015, au Royaume-Uni, sur une rainette arboricole de White (Angl. : White's tree frog - *Litoria caerulea*, aujourd'hui *Dryopsophus caeruleus*), australienne, utilisée lors d'exhibitions d'une collection d'animaux tropicaux et présentant des lésions à type de boursouffure au bas du dos et dont a pu être isolée une souche (UK8/14) apparentée aux *Brucella* et en particulier au « clade » mentionné ci-dessus [Whatmore *et al.*, 2015] ;
- En 2016, au Texas (É.-U.), sur une grenouille cornue ornée (Angl. : Pac-Man frog - *Ceratophrys ornata*), sud-américaine, dont on a isolé encore une fois une souche (B13-0095) apparentée au même clade de *Brucella* [Soler-Lloréns *et al.*, 2016].

¹¹ Basse-Autriche, soit la même région que celle où *B. microti* avait été isolée précédemment.

¹² Rat australien du bush, sous-espèce du Queensland (*Rattus fuscipes coracius*) ; Souris à queue nue de Gould (Fawn-footed Melomys - *Melomys cervinipes*) et Souris des herbes papoue (Papua Grassland Melomys - *Melomys lutillus*).

Ces auteurs ont par ailleurs confirmé la mobilité des souches appartenant à ce clade :

- En 2017, au Japon, sur une rainette arboricole de White et une rainette arboricole de Denny (Angl. : Denny's Flying Frog - *Rhacophorus dennysi*), d'Asie tropicale, capturées dans la nature et importées, sans signe clinique mais trouvées mortes au sein de diverses autres espèces de deux animaleries touchées par une épidémie de mycose [Kimura *et al.*, 2017]. Des souches de *Brucella* (A105 et A141) ont pu être isolées (de la moelle osseuse et du foie respectivement), et de nouveau apparentées au même clade ;
- En 2017, une publication [Mühldorfer *et al.*, 2017] rapportait également des isolements de souches analogues à partir de :
 - crapaud buffle (Angl. : Cane toad - *Chaunus marinus* ou *Rhinella marina*) d'Australie mais introduit d'Amérique [isolées en 2006-2007 et initialement identifiées comme *Ochrobactrum anthropi*], atteint d'arthropathie vertébrale ;
 - rainette aux yeux rouges (Angl. : red-eyed tree frog - *Agalychis callidryas*) d'Amérique Centrale, avec un abcès du membre postérieur ;
 - grenouille lait d'Amazonie (Angl. : Amazonian milk frog, cb - *Trachycephalus resinifictrix*) présentant des granulomes cardiaques et hépatiques ou des adénites para-vertébrales ;
 - crapaud rouge de Madagascar (Angl. : Tomato frog - *Dyscopus antongilii*) présentant une infection systémique.

À noter également qu'en 2017, en Allemagne, une *Brucella* apparentée à celles décrites ci-dessus chez les amphibiens a pu être isolée d'une raie pastenague à taches bleues (Angl. : Bluespotted ribbontail ray - *Taeniura lymna*) [Eisenberg *et al.*, 2017] ; il s'agit du premier isolement de *Brucella* à partir d'un poisson marin.

Bien que les *Brucella* aient longtemps été considérées comme un genre très homogène au point de proposer d'en faire un genre monospécifique [Verger *et al.*, 1985], la diversité du groupe est désormais connue et amplifiée par la description de ces dernières espèces souvent décrites comme « atypiques » du fait notamment de leurs caractéristiques génétiques.

Les souches marines isolées de cétacés et pinnipèdes, constituent, semble-t-il, un groupe homogène, bien qu'une certaine spécificité d'hôte apparaisse (pour *B. ceti*, un clade plutôt spécifique des dauphins et un autre clade plutôt spécifique des marsouins ; pour *B. pinnipedialis*, un groupe plutôt confiné au Phoque à capuchon [*Cystophora cristata*] et un groupe pour toutes les autres souches [Whatmore *et al.*, 2016]) à laquelle s'ajoutent des variations génétiques apparemment liées à l'espèce hôte et/ou à la localisation géographique [Suárez-Esquivel *et al.*, 2017]. Ce sont les premières espèces de *Brucella* pour lesquelles une association d'outils moléculaires au phénotypage classique a permis la description et l'individualisation d'espèces [Scholz et Vergnaud, 2013].

Aujourd'hui, la plupart des auteurs s'accordent pour regrouper ces souches marines, de même que *B. microti* et *B. papionis* dans le grand groupe des *Brucella* « classiques » et marines, dénommé **clade A** (ou **core-Brucella**). Les autres *Brucella* « atypiques », intégrant *B. inopinata*, *B. inopinata*-like BO2, les souches de rongeurs et, sans doute les souches d'amphibiens, dans un second clade dénommé **clade B**. Ces dernières présentent toutes des caractéristiques phénotypiques éloignées de celles communes aux *Brucella* classiques (croissance rapide, métabolisme plus actif et absence d'agglutination sur sérums monospécifiques -A et -M du fait de modifications structurales du LPS, notamment [Wattam *et al.*, 2012]), ce qui a conduit pour la plupart à une identification initiale erronée comme *Ochrobactrum* sp [Zygmunt *et al.*, 2012].

Une étude comparative des génomes de *Brucella* a été récemment rapportée, dont l'objectif était d'évaluer l'histoire évolutive des membres de la famille des *Brucellaceae*, des espèces libres et associées au sol jusqu'à celles pathogènes intracellulaires. Cette étude a confirmé l'existence des deux clades. Différents transferts de gènes à partir d'*Ochrobactrum* auraient apporté aux *Brucella* des facteurs de virulence absents de leurs ancêtres progéniteurs. La diversification ultérieure au sein du core *Brucella* aurait conduit à des lignées ayant évolué au sein de l'espèce-hôte préférentielle, restreignant leur virulence et leur permettant d'échapper à la réponse immunitaire innée de l'hôte, à moduler la réponse immunitaire acquise et à échapper à la destruction intracellulaire ; et devenir ainsi des agents pathogènes « discrets » (Angl. : stealth pathogens) à même d'induire des infections au long cours telles qu'on peut les observer chez l'Homme

comme chez les mammifères domestiques, de rente ou de compagnie [Wattam *et al.*, 2014].

Ces hypothèses ont été renforcées très récemment par des études du génome de souches isolées de grenouilles, plaçant ces souches dans le groupe des *Brucella* « atypiques » entre les saprophytes libres du sol et les *Brucella* intracellulaires « classiques »,

leur diversité tant phénotypique que génotypique, ne permettant pas de les inclure dans une seule espèce de *Brucella* [Scholz *et al.*, 2016b ; Al Dahouk *et al.*, 2017]. Le monde des *Brucella* s'élargit et se complique. Cette évolution n'est certainement pas terminée, vu l'évolution des outils moléculaires disponibles, de nouveaux isollements étant également probables.

Tableau 1
Espèces de *Brucella* actuellement décrites

Espèce	Biovars décrits	Hôte préférentiel
Espèces classiques		
<i>B. abortus</i>	1-6, (7)*, 9	Bovins
<i>B. melitensis</i>	1-3	Ovins, Caprins
<i>B. suis</i>	1-5**	Porcins, Lièvre, Renne, Rongeurs
<i>B. canis</i>	-	Chien
<i>B. ovis</i>	-	Ovins
<i>B. neotomae</i>	-	Isolée du Néotome du désert (<i>Neotoma lepida</i>)
Espèces récemment décrites		
<i>B. pinnipedialis</i>	-	Pinnipèdes
<i>B. ceti</i>	-	Cétacés (dauphins, marsouins)
<i>B. microti</i>	-	Isolée initialement du Campagnol des champs (<i>Microtus arvalis</i>) puis du Renard roux (<i>Vulpes vulpes</i>) et du sol
<i>B. inopinata</i>	-	Inconnu (isolée chez l'Homme)
<i>B. vulpis</i>	-	Isolée du Renard roux (<i>Vulpes vulpes</i>)
<i>B. papionis</i>	-	Isolée d'un babouin (<i>Papio</i> sp.)
Espèces non encore classées		
<i>B. rodentia</i> (non officiel)		Isolée de rongeurs sauvages
« Frog <i>Brucella</i> »		Isolée de batraciens

* Le statut du biovar 7 est actuellement en cours de révision, la souche de référence s'étant avérée être un mélange de deux autres biovars [Garin-Bastuji *et al.*, 2014] ; le biovar 8 a été supprimé de la classification par le Sous-Comité de Taxonomie des *Brucella* [ICSB, 1982].

** Spécificité d'hôte en lien avec le biovar : 1 et 3 : suidés (Amérique, Océanie, Asie) ; 2 : suidés et lièvre (Europe uniquement) ; 4 : renne (Nord de l'hémisphère nord) ; 5 : Mulot rayé [*Apodemus agrarius*], Mulot sylvestre [*A. sylvaticus*], Souris grise [*Mus musculus*], Campagnol des champs [*Microtus arvalis*] et Hamster gris [*Cricetulus migratorius*] (sud de l'Ukraine et sud-est de la Russie européenne y compris nord-Caucase).

BIBLIOGRAPHIE

- Al Dahouk S., Köhler S., Occhialini A., Jiménez de Bagüés M.P., Hammerl J.A., Eisenberg T., Vergnaud G., Cloeckaert A., Zygmunt M.S., Whatmore A.M., Melzer F., Drees K.P., Foster J.T., Wattam A.R., Scholz H.C. - *Brucella* spp. of amphibians comprise genomically diverse motile strains competent for replication in macrophages and survival in mammalian hosts. *Sci. Rep.*, 2017, **7**, 44420.
- Bruce D. - Note on the discovery of a microorganism in Malta Fever. *Practitioner*, 1887, **39**, 161.
- Buddle M.B. - Studies on *Brucella ovis* (n. sp.), a cause of genital disease of sheep in New Zealand and Australia. *J. Hyg. (Lond.)*, 1956, **54**, 351-364.
- Carmichael L.E., Bruner D.W. - Characteristics of a newly-recognized species of *Brucella* responsible for infectious canine abortions. *Cornell Vet.*, 1968, **48**, 579-592.
- Cook I., Campbell R.W., Barrow G. - Brucellosis in North Queensland rodents. *Aust. Vet. J.*, 1966, **42**, 5-8.
- Corbel M.J., Brinley-Morgan W.J. - Genus *Brucella* Meyer and Shaw 1920, 173AL. In N. R. Krieg et al. (ed.), *Bergey's manual of systemic bacteriology*, vol. 1. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, MD. (É.-U.), 1984, 377-388.
- Dawson C.E., Stubberfield E.J., Perrett L.L., King A.C., Whatmore A.M., Bashiruddin J.B., Stack J.A., Macmillan A.P. - Phenotypic and molecular characterization of *Brucella* isolates from marine mammals. *BMC Microbiol.*, 2008, **8**, 224.
- De B.K., Stauffer L., Koylass M.S., Sharp S.E., Gee J.E., Hesel L.O., Steigerwalt A.G., Vega R., Clark T.A., Daneshvar M.I., Wilkins P.P., Whatmore A.M. - Novel *Brucella* strain (BO1) associated with a prosthetic breast implant infection. *J. Clin. Microbiol.*, 2008, **46**, 43-49.
- De Ley J., Mannheim W., Segers P., Lievens A., Denijn M., Vanhoucke M., Gillis M. - Ribosomal ribonucleic acid cistron similarities and taxonomic neighborhood of *Brucella* and CDC group Vd. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1987, **37**, 35-42.
- Eisenberg T., Hamann H.P., Kaim U., Schlez K., Seeger H., Schauerte N., Melzer F., Tomaso H., Scholz H.C., Koylass M.S., Whatmore A.M., Zschöck M. - Isolation of potentially novel *Brucella* spp. from frogs. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012, **78**, 3753-3755.
- Eisenberg T., Riße K., Schauerte N., Geiger C., Blom J., Scholz H.C. - Isolation of a novel 'atypical' *Brucella* strain from a bluespotted ribbontail ray (*Taeniura lymma*), 2017, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2017, **110**, 221-234.
- Ewalt D.R., Payeur J.B., Martin B.M., Cummins D.R., Miller G.M. - Characteristics of a *Brucella* species from a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1994, **6**, 448-452.
- Fischer D., Lorenz N., Heuser W., Kämpfer P., Scholz H.C., Lierz M. - Abscesses associated with a *Brucella inopinata*-like bacterium in a big-eyed tree frog (*Leptopelis vermiculatus*). *J. Zoo Wildl. Med.*, 2012, **43**, 625-628.
- Foster G., MacMillan A.P., Godfroid J., Howie F., Ross H.M., Cloeckaert A., Reid R.J., Brew S., Patterson I.A.P. - A review of *Brucella* sp. infection of sea mammals with particular emphasis on isolates from Scotland. *Vet. Microbiol.*, 2002, **90**, 563-580.
- Foster G., Osterman B.S., Godfroid J., Jacques I., Cloeckaert A. - *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2007, **57**, 2688-2693.
- Foster G., Whatmore A.M., Dagleish M.P., Baily J.L., Deaville R., Davison N.J., Koylass M.S., Perrett L.L., Stubberfield E.J., Reid R.J., Brownlow A.C. - Isolation of *Brucella ceti* from a Long-finned Pilot Whale (*Globicephala melas*) and a Sowerby's Beaked Whale (*Mesoploden bidens*). *J. Wildl. Dis.*, 2015, **51**, 868-871.
- Garin-Bastuji B., Mick V., Le Carrou G., Allix S., Perrett L.L., Dawson C.E., Groussaud P., Stubberfield E.J., Koylass M., Whatmore A.M. - Examination of taxonomic uncertainties surrounding *Brucella abortus* biovar 7 using phenotypic and molecular approaches. *Applied Environ. Microbiol.*, 2014, **80**, 1570-1579.
- Godfroid J., Nymo I.H., Tryland M., Cloeckaert A., Jauniaux T., Whatmore A.M., Moreno E., Foster G. - *Brucella ceti* and *Brucella pinnipedialis* infections in marine mammals. In AA Aguirre, RS Ostgeld, P Daszak (ed.), *New Directions in Conservation Medicine. Applied cases of ecological health*. Oxford University Press, New York (É.-U.), 2012, 257-269.

- Guzmán-Verri C., González-Barrientos R., Hernández-Mora G., Morales J.A., Baquero-Calvo E., Chaves-Olarte E., Moreno M. - *Brucella ceti* and brucellosis in cetaceans. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2012, **2**, 3.
- Hofer E., Revilla-Fernández S., Al Dahouk S., Riehm J.M., Nöckler K., Zygmunt M.S., Cloeckert A., Tomaso H., Scholz H.C. - A potential novel *Brucella* species isolated from mandibular lymph nodes of red foxes in Austria. *Vet. Microbiol.*, 2012, **155**, 93-99.
- Hoyer B.H., McCullough N.B. - Homologies of deoxyribonucleic acids from *Brucella ovis*, canine abortion organisms, and other *Brucella* species. *J. Bacteriol.*, 1968, **96**, 1783-1790.
- Hubalek Z., Scholz H.C., Sedlacek I., Melzer F., Sanogo Y.O., Nesvadbova J. - Brucellosis of the common vole (*Microtus arvalis*). *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 2007, **7**, 679-687.
- Huddleson I.F. - The differentiation of the species of the genus *Brucella*. *Michigan State College Agricultural Experiment Station Technical Bulletin (East Lansing)*, 1929, **100**, 1-16.
- ICSB (International Committee on Systematic Bacteriology, Subcommittee on the Taxonomy of *Brucella*). - Minutes of the Meeting, 4 and 5 September 1978. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1982, **32**, 260-261.
- ICSB (International Committee on Systematic Bacteriology, Subcommittee on the Taxonomy of *Brucella*). - Report of the meeting, 5 September 1986, Manchester, England. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1988, **38**, 450-452.
- Isidoro-Ayza M., Ruiz-Villalobos N., Pérez L., Guzmán-Verri C., Muñoz P.M., Alegre F., Barberán M., Chacón-Díaz C., Chaves-Olarte E., González-Barrientos R., Moreno E., Blasco J.M., Domingo M. - *Brucella ceti* infection in dolphins from the Western Mediterranean sea. *BMC Vet. Res.*, 2014, **10**, 206.
- Jiménez de Bagüés M.P., Ouahrani-Bettache S., Quintana J.F., Mitjana O., Hanna N., Bessoles S., Sanchez F., Scholz H.C., Lafont V., Köhler S., Occhialini A. - The new Species *Brucella microti* replicates in macrophages and causes death in murine models of infection. *J. Infect. Dis.*, 2010, **202**, 3-10.
- Jiménez de Bagüés M.P., Iturralde M., Arias M.A., Pardo J., Cloeckert A., Zygmunt M.S. - The new strains *Brucella inopinata* BO1 and *Brucella* species 83-210 behave biologically like classic infectious *Brucella* species and cause death in murine models of infection. *J. Infect. Dis.*, 2014, **210**, 467-472.
- Judicial Commission - Proposal to emend the International Code of nomenclature of Bacteria. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1985, **35**, 123.
- Kimura M., Une Y., Suzuki M., Park E.S., Imaoka K., Morikawa S. - Isolation of *Brucella inopinata*-like bacteria from White's and Denny's Tree Frogs. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 2017, **17**, 297-302.
- Lynch M., Nielsen O., Duignan P.J., Kirkwood R., Hoskins A., Arnould J.P. - Serologic survey for potential pathogens and assessment of disease risk in Australian fur seals. *J. Wildl. Dis.*, 2011, **47**, 555-565.
- Meyer K.F., Shaw E.B. - A comparison of the morphologic, cultural and biochemical characteristics of *B. abortus* and *B. melitensis* from cattle. Studies on the genus *Brucella* nov. gen. *J. Infect. Dis.*, 1920, **27**, 173-184.
- Mühldorfer K., Wibbelt G., Szentiks C.A., Fischer D., Scholz H.C., Zschöck M., Eisenberg T. - The role of 'atypical' *Brucella* in amphibians: are we facing novel emerging pathogens? *J. Appl. Microbiol.*, 2017, **122**, 40-53.
- Nymo I.H., Tryland M., Godfroid J. - A review of *Brucella* infection in marine mammals, with special emphasis on *Brucella pinnipedialis* in the hooded seal (*Cystophora cristata*). *Vet. Res.*, 2011, **42**, 93.
- Ohishi K., Katsumata E., Uchida K., Maruyama T. - Two stranded pygmy sperm whales (*Kogia breviceps*) with anti-*Brucella* antibodies in Japan. *Vet. Rec.*, 2007, **160**, 628-629
- Pappas G., Papadimitriou P., Akritidis N., Christou L., Tsianos E.V. - The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect. Dis.*, 2006, **6**, 91-99.
- Rónai S., Kreizinger Z., Dán Á., Drees K., Foster J.T., Bányai K., Marton S., Szeredi L., Jánosi S., Gyuranecz M. - First isolation and characterization of *Brucella microti* from wild boar. *BMC Vet. Res.*, 2015, **11**, 147.
- Ross H.M., Foster G., Reid R.J., Jahans K.L., MacMillan A.P. - *Brucella* species infection in sea mammals. *Vet. Rec.*, 1994, **134**, 359.
- Schlabritz-Loutsevitch N.E., Whatmore A.M., Quance C.R., Koylass M.S., Cummins L.B., Dick Jr E.J., Snider C.L., Cappelli D., Ebersole J.L., Nathanielsz P.W., Hubbard G.B. - A novel *Brucella* isolate in association with two cases of

- stillbirth in non-human primates - first report. *J. Med. Primatol.*, 2009, **38**, 70-73.
- Scholz H.C., Hubalek Z., Nesvadbova J., Tomaso H., Vergnaud G., Le Flèche P., Whatmore A.M., Al Dahouk S., Krüger M., Lodri C., Pfeffer M. - Isolation of *Brucella microti* from soil. *Emerg. Infect. Dis.*, 2008a, **14**, 1316-1317.
- Scholz H.C., Hubalek Z., Sedlacek I., Vergnaud G., Tomaso H., Al Dahouk S., Melzer F., Kampfer P., Neubauer H., Cloeckeaert A., Maquart M., Zygmunt M.S., Whatmore A.M., Falsen E., Bahn P., Gollner C., Pfeffer M., Huber B., Busse H.J., Nockler K. - *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2008b, **58**, 375-382.
- Scholz H.C., Hofer E., Vergnaud G., Le Flèche P., Whatmore A.M., Al Dahouk S., Pfeffer M., Krüger M., Cloeckeaert A., Tomaso H. - Isolation of *Brucella microti* from mandibular lymph nodes of red foxes, *Vulpes vulpes*, in Lower Austria. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 2009, **9**, 153-155.
- Scholz H.C., Nockler K., Gollner C., Bahn P., Vergnaud G., Tomaso H., Al Dahouk S., Kampfer P., Cloeckeaert A., Maquart M., Zygmunt M.S., Whatmore A.M., Pfeffer M., Huber B., Busse H.J., De B.K. - *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2010, **60**, 801-808.
- Scholz H.C., Vergnaud G. - Molecular characterisation of *Brucella* species. *Rev. Sci. Tech. OIE*, 2013, **32**, 149-162.
- Scholz H.C., Revilla-Fernández S., Al Dahouk S., Hammerl J.A., Zygmunt M.S., Cloeckeaert A., Koylass M., Whatmore A.M., Blom J., Vergnaud G., Witte A., Aistleitner K., Hofer E. - *Brucella vulpis* sp. nov., isolated from mandibular lymph nodes of red foxes (*Vulpes vulpes*). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2016a, **66**, 2090-2098.
- Scholz H.C., Mühlendorfer K., Shilton C., Benedict S., Whatmore A.M., Blom J., Eisenberg T. - The change of a medically important genus: worldwide occurrence of genetically diverse novel *Brucella* species in exotic frogs. *PLoS One*. 2016b, **11**(12):e0168872.
- Soler-Lloréns P.F., Quance C.R., Lawhon S.D., Stuber T.P., Edwards J.F., Ficht T.A., Robbe-Austerman S., O'Callaghan D., Keriel A. - A *Brucella* spp. isolate from a Pac-Man Frog (*Ceratophrys ornata*) reveals characteristics departing from classical Brucellae. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2016, **6**, 116.
- Stoenner H.G., Lackman D.B. - A new species of *Brucella* isolated from the desert wood rat, *Neotoma lepida* Thomas. *Am. J. Vet. Res.*, 1957, **18**, 947-951.
- Suárez-Esquivel M., Baker K.S., Ruiz-Villalobos N., Hernández-Mora G., Barquero-Calvo E., González-Barrientos R., Castillo-Zeledón A., Jiménez-Rojas C., Chacón-Díaz C., Cloeckeaert A., Chaves-Olarte E., Thomson N.R., Moreno E., Guzmán-Verrí C. - *Brucella* genetic variability in wildlife marine mammals populations relates to host preference and ocean distribution. *Genome Biol. Evol.*, 2017, **9**, 1901-1912.
- Tiller R.V., Gee J.E., Frace M.A., Taylor T.K., Setubal J.C., Hoffmaster A.R., De B.K. - Characterization of novel *Brucella* strains originating from wild native rodent species in North Queensland, Australia. *Applied Environ. Microbiol.*, 2010a, **76**, 5837-5845.
- Tiller R.V., Gee J.E., Lonsway D.R., Gribble S., Bell S.C., Jennison A., Bates J., Coulter C., Hoffmaster A.R., De B.K. - Identification of an unusual *Brucella* strain (BO2) from a lung biopsy in a 52-year old patient with chronic destructive pneumonia. *BMC Microbiol.*, 2010b, **10**, 23.
- Vergier J.M., Grimont F., Grimont P.A.D., Grayon M. - *Brucella*, a monospecific genus as shown by deoxyribonucleic acid hybridization. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1985, **35**, 292-295.
- Wattam A.R., Inzana T.J., Williams K.P., Mane S.P., Shukla M., Almeida N.F., Dickerman A.W., Mason S., Moriyón I., O'Callaghan D., Whatmore A.M., Sobral B.W., Tiller R.V., Hoffmaster A.R., Frace M.A., De Castro C., Molinaro A., Boyle S.M., De B.K., Setubal J.C. - Comparative genomics of early-diverging *Brucella* strains reveals a novel lipopolysaccharide biosynthesis pathway. *mBio*, 2012, **3**, e00246-12.
- Wattam A.R., Foster J.T., Mane S.P., Beckstrom-Sternberg S.M., Beckstrom-Sternberg J.M., Dickerman A.W., Keim P., Pearson T., Shukla M., Ward D.V., Williams K.P., Sobral B.W., Tsois R.M., Whatmore A.M., O'Callaghan D. - Comparative phylogenomics and evolution of the brucellae reveal a path to virulence. *J. Bacteriol.*, 2014, **196**, 920-930.
- Whatmore A.M. - Current understanding of the genetic diversity of *Brucella*, an expanding genus of zoonotic pathogens. *Infect. Genet. Evol.*, 2009, **9**, 1168-1184.
- Whatmore A.M., Dawson C.E., Groussaud P., Koylass M.S., King A.C., Shankster S.J., Sohn A.H.,

- Probert W.S., McDonald W.L. - Marine mammal *Brucella* genotype associated with zoonotic infection. *Emerg. Infect. Dis.*, 2008, **14**, 517-518.
- Whatmore A.M., Davison N., Cloeckaert A., Al Dahouk S., Zygmunt M.S., Brew S.D., Perrett L.L., Koylass M.S., Vergnaud G., Quance C., Scholz H.C., Dick Jr E.J., Hubbard G., Schlabritz-Loutsevitch N.E. - *Brucella papionis* sp. nov., isolated from baboons (*Papio* spp.). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2014, **64**, 4120-4128.
- Whatmore A.M., Dale E.J., Stubberfield E., Muchowski J., Koylass M., Dawson C., Gopaul K.K., Perrett L.L., Jones M., Lawrie A. - Isolation of *Brucella* from a White's tree frog (*Litoria caerulea*). *J. Med. Microbiol. Case Reports*, 2012, e000017.
- Whatmore A.M., Koylass M.S., Muchowski J., Edwards-Smallbone J., Gopaul K.K., Perrett L.L. - Extended multilocus sequence analysis to describe the global population structure of the genus *Brucella*: phylogeography and relationship to biovars. *Front. Microbiol.*, 2016, **7**, 2049.
- Whatmore A.M., Dawson C., Muchowski J., Perrett L.L., Stubberfield E., Koylass M., Foster G., Davison N.J., Quance C., Sidor I.F., Field C.L., St. Leger J. - Characterisation of North American *Brucella* isolates from marine mammals. *PLoS ONE*, 2017, **12**(9):e0184758.
- Zygmunt M.S., Jacques I., Bernardet N., Cloeckaert A. - Lipopolysaccharide heterogeneity in the atypical group of novel emerging *Brucella* species. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2012, **19**, 1370-1373.

