

CNR *Bordetella pertussis*: rapport du Centre National de Référence pour l'année 2012.

Introduction

En 2012 les deux laboratoires du Centre National de Référence *Bordetella pertussis* ont confirmé un total de **500 cas d'infection par *Bordetella pertussis***.

Les techniques diagnostiques étaient :

- Culture + PCR: 61 cas
- Seulement culture : 3 cas (isolats extérieurs)
- PCR + sérologie: 9 cas
- Seulement PCR: 121 cas
- Seulement sérologie: 306 cas

De plus, une infection par *B. parapertussis* a été constatée par PCR et culture (8 cas) ou seulement par PCR (12 cas), mais ces cas ne seront pas pris en considération dans ce rapport.

Origine des souches et des échantillons cliniques

Seulement trois isolat ont été soumis par un autre laboratoire vigie, celui des Cliniques Universitaires de l'UCL à Mont-Godinne. Tous les autres échantillons respiratoires ont été soumis directement à l'UZ Brussel pour culture et PCR. Tous les tests sérologiques ont été effectués par l'ISP, DO- MTI, Service d'Immunologie.

Données épidémiologiques

Les données épidémiologiques concernant les cas diagnostiqués d'une part par PCR et/ou culture et d'autre part par sérologie étaient assez différentes. Après exclusion des doublons parmi les 4 cas qui ont été diagnostiqués par les deux types de techniques ou des cas où le sexe (2 cas) ou l'âge (1 cas) ne nous pas été communiqués, le tableau suivant se présente :

| | PCR et/ou culture (2 inconnus) | Sérologie |
|-------------------------|-----------------------------------|--------------------------|
| Sexe | 103 F / 86 M | 154 F / 152 M |
| Age (mediane, extrêmes) | 5 ans (8 jours – 88 ans) | 42 ans (5 mois – 81 ans) |

La répartition d'âge est représentée dans la figure 1 en fonction de la technique. Il est clair que la détection directe par PCR (confirmée ou non par culture) est surtout positive chez les jeunes enfants. Mais le diagnostic sérologique démontre que l'infection à *B. pertussis* est encore très présente chez les enfants plus âgés et les adolescents, mais surtout chez les adultes.

La figure 2 représente la distribution d'âge des patients avec un diagnostic sur les échantillons respiratoires.

La figure 3 donne l'évolution depuis 1990 du nombre de cas confirmés par PCR et/ou culture.

Sensibilité aux antibiotiques

Les 64 souches de *Bordetella pertussis* disponibles pour des investigations ont toutes été trouvées sensibles à l'érythromycine.

Typage des souches de *Bordetella pertussis*

Les séquences de quatre gènes de virulence de *Bordetella pertussis* ont été déterminées pour les 64 souches disponibles pour l'année 2012. Les résultats pour le gène de la pertactine (*prn*) ont été comparés à ceux des années précédentes dans le tableau 1. Les résultats pour les sous-unités S1 et S2 de la toxine pertussique (*ptxA* en *ptxC*) et pour le facteur de colonisation trachéal (*tcfA*) ont été combinés pour déterminer un type de séquence multilocus (MLST) et sont représentés dans le tableau 2.

La combinaison de *prn2* avec MLST5 reste dominante.

Le type *ptxP* des isolats a aussi été déterminé pour les isolats de 2013 (tableau 3) : la majorité appartient au type *ptxP3*, le type qui domine actuellement dans un certain nombre de pays européens.

Le tableau 4 montre la distribution des sérotypes : la plupart des isolats sérotypables sont distribués entre les types 2, 3 et 2,3.

Conclusion

Comme cela déjà été montré dans une publication conjointe des deux laboratoires du Centre National de Référence (Vincent M et al., Clin Vaccine Immunol. 2011;18:588-94), les techniques de PCR et de culture sur les sécrétions respiratoires et la sérologie sont complémentaires. Les données de ce rapport démontrent clairement que la première trouve surtout sa place chez les jeunes enfants, tandis que la seconde confirme que *B. pertussis* circule encore toujours chez les enfants plus âgés et les adultes, qui représentent une source d'infection pour les premiers. Ceci a été confirmé aussi par notre étude de sérosurveillance effectuée au cours du second semestre de 2012, sur 1500 échantillons résiduels de sérum rassemblés dans 6 laboratoires de chimie clinique en Wallonie, en Flandre et en région de Bruxelles-capitale. Les échantillons ont été collectés dans deux classes d'âge (20-29 ans et 30-39 ans) et les titres d'anticorps IgG anti-toxine pertussique ont été déterminés à l'aide d'un ELISA Virion-Serion. A l'aide de valeurs de cut-off, il est apparu que 4% des sérums ont des titres d'anticorps qui indiquent une infection coquelucheuse dans les deux ans précédents et encore 4% indiquant une infection récente (Huygen et al, Epidemiol. Infection, 2013).

Que la coqueluche chez l'adulte ne s'accompagne pas toujours des symptômes classiques a encore été démontré par le cas d'un patient âgé de 47 ans qui souffrait d'une toux persistante, mais chez qui seulement après une série d'examen (dont une gastroscopie, une radiographie et un scanner du thorax) on a pensé à la coqueluche et le diagnostic a finalement été posé par la sérologie après huit semaines de symptômes (Toukoui et al, 2013)

La diversité génétique de *Bordetella pertussis* en Belgique reste depuis quelques années limitée aux souches qui appartiennent au type MLST 5 et qui possèdent le gène *prn2*.

Figure 1: Répartition d'âge des patients en fonction de la technique de diagnostic.

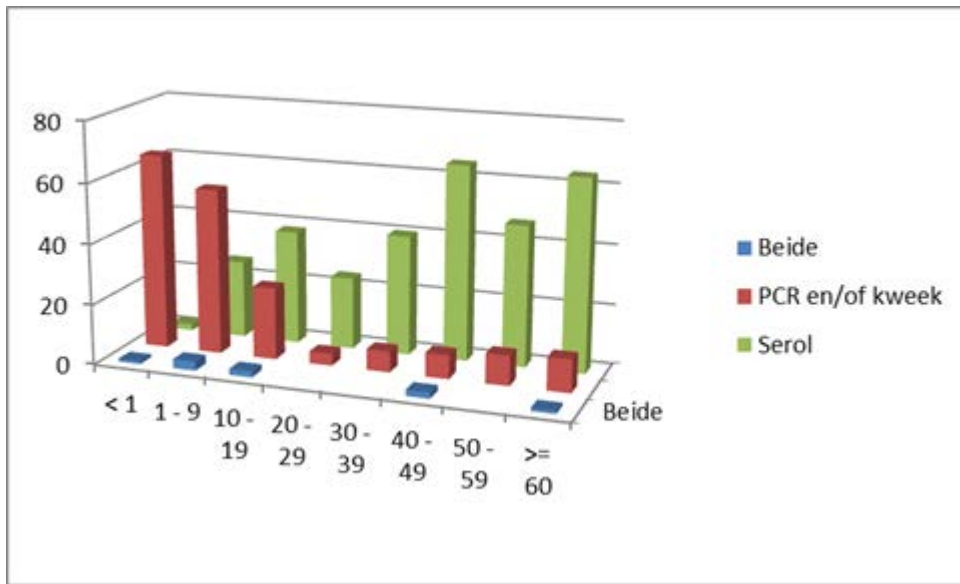


Figure 2: Distribution d'âge des patients diagnostiqués sur base des échantillons respiratoires

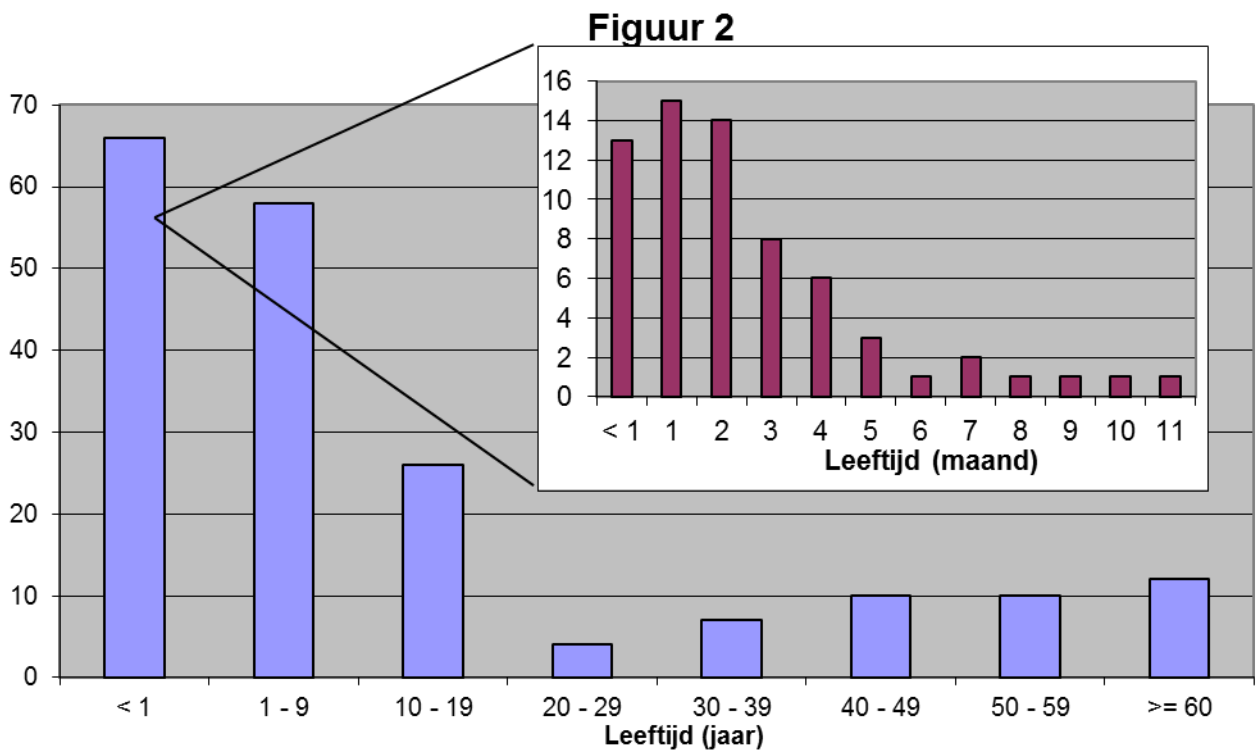


Figure 3: Diagnostic sur les échantillons respiratoires

Figuur 3

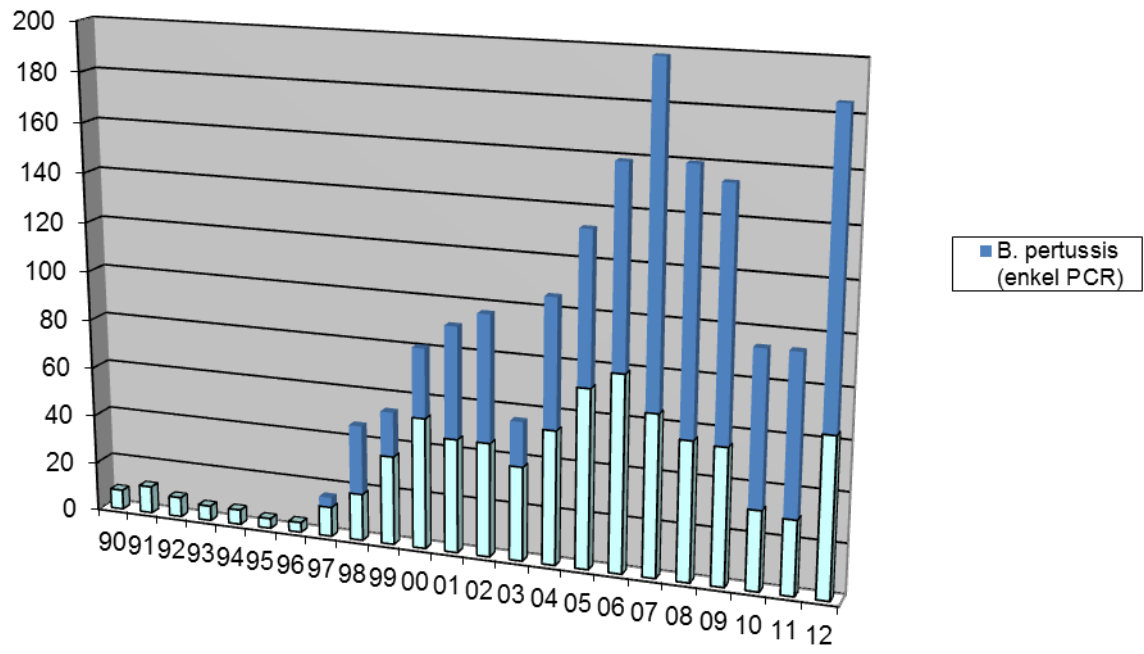
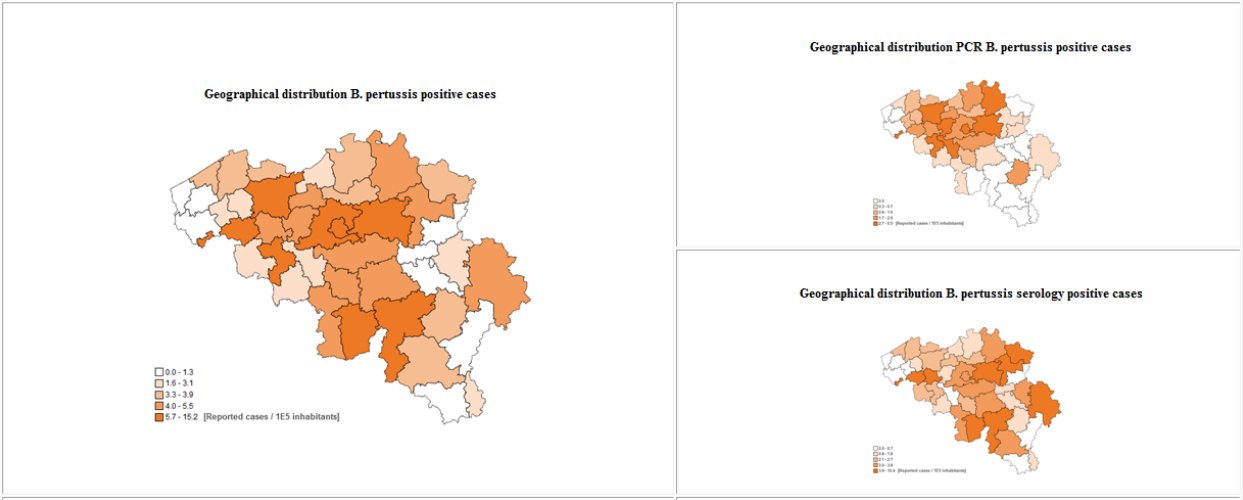


Figure 4: Distribution géographique des cas de coqueluche aiguë en 2012

Bordetella pertussis, data=2012, NRC



Tabel 2: Polymorphisme du gène de la pertactine

| Année | Nombre de souches étudiées | Type de pertactine (nombre de souches) | | | | | | Non typable |
|--------|----------------------------|--|------|------|------|------|-------|-------------|
| | | prn1 | prn2 | prn3 | prn4 | prn9 | prn11 | |
| 1987 | 7 | 1 | 3 | 2 | | 1 | | |
| 1988 | 1 | 1 | | | | | | |
| 1989 | 5 | | 4 | 1 | | | | |
| 1990 | 7 | 3 | 3 | 1 | | | | |
| 1991 | 10 | 2 | 3 | 5 | | | | |
| 1992 | 7 | | 5 | 1 | | | 1 | |
| 1993 | 6 | | 2 | 4 | | | | |
| 1994 | 6 | | 4 | 2 | | | | |
| 1995 | 4 | | 1 | 2 | | 1 | | |
| 1996 | 4 | 1 | 2 | 1 | | | | |
| 1997 | 12 | 1 | 2 | 9 | | | | |
| 1998 | 20 | 5 | 5 | 10 | | | | |
| 1999 | 34 | 1 | 20 | 13 | | | | |
| 2000 | 54 | 4 | 38 | 12 | | | | |
| 2001 | 49 | 2 | 44 | 3 | | | | |
| 2002 | 48 | 3 | 42 | 1 | | 2 | | |
| 2003 | 40 | 1 | 36 | 2 | 1 | | | |
| 2004 | 50 | 3 | 44 | 2 | 1 | | | |
| 2005 | 69 | 1 | 66 | 2 | | | | |
| 2006 | 71 | | 71 | | | | | |
| 2007 | 65 | | 64 | 1 | | | | |
| 2008 | 55 | | 53 | 2 | | | | |
| 2009 | 54 | 1 | 52 | | | 1 | | |
| 2010 | 33 | | 31 | | 2 | | | |
| 2011 | 30 | | 29 | | | | | 1* |
| 2012 | 64 | | 62 | | | | | 2* |
| Totaal | 805 | 30 | 622 | 76 | 4 | 5 | 1 | 3 |

* pas d'amplification du gène *prn*

Tabel 3: Typage des séquences multilocus

| Année | Nombre de souches étudiées | Multilocus sequence types (nombre de souches) | | | | | | |
|--------|----------------------------|---|-------|-------|-------|-------|-----------------|--------------------------|
| | | MLST2 | MLST3 | MLST4 | MLST5 | MLST6 | MLST7 | Indéterminé ¹ |
| 1987 | 7 | | 7 | | | | | |
| 1988 | 1 | | 1 | | | | | |
| 1989 | 5 | | 5 | | | | | |
| 1990 | 7 | | 5 | | | 2 | | |
| 1991 | 10 | | 6 | 2 | | 2 | | |
| 1992 | 7 | 1 | 5 | 1 | | | | |
| 1993 | 6 | | 3 | 3 | | | | |
| 1994 | 6 | | 4 | 2 | | | | |
| 1995 | 4 | | 3 | 1 | | | | |
| 1996 | 4 | | 3 | 1 | | | | |
| 1997 | 12 | 1 | | 9 | 2 | | | |
| 1998 | 20 | 1 | 4 | 10 | 3 | 1 | | 1 ^{2a} |
| 1999 | 34 | | 5 | 13 | 16 | | | |
| 2000 | 54 | | 9 | 12 | 32 | | | 1 ^{2a} |
| 2001 | 49 | | 10 | 1 | 37 | | | 1 ^{2a} |
| 2002 | 48 | | 3 | | 43 | | 1 ^{2b} | 1 ^{2a} |
| 2003 | 40 | | 5 | 2 | 33 | | | |
| 2004 | 50 | | 3 | 1 | 46 | | | |
| 2005 | 69 | | 1 | | 66 | | | 2 ^{2b} |
| 2006 | 71 | | | | 70 | | | 1 ³ |
| 2007 | 65 | | 1 | | 64 | | | |
| 2008 | 55 | | 2 | | 52 | | | 1 ³ |
| 2009 | 54 | | 1 | | 50 | | | 3 ^{1,2a} |
| 2010 | 33 | | | | 33 | | | |
| 2011 | 30 | | 1 | | 27 | | | 2 ^{1,4} |
| 2012 | 64 | | 1 | | 63 | | | |
| Totaal | 805 | 3 | 87 | 58 | 574 | 5 | 1 | 13 |

¹ patrons qui ne correspondent pas avec les 11 types MLST définis par Packard et al. (J. Med. Microbiol., 2004, 53:355-365).

² isolats qui n'expriment pas le facteur de colonisation trachéal car le gène en die de tracheale colonisatiefactor niet uitdrukken omdat het *tcfA* est délété^{2a} ou muté^{2b} (voir Characterization of *Bordetella pertussis* clinical isolates that do not express the tracheal colonization factor. van Gent M, Piérard D, Lauwers S, van der Heide HG, King AJ, Mooi FR. FEMS Immunol Med Microbiol. 2007; 51:149-54)

³ isolat avec une variabilité dans le gène *tcfA* gen (A2 ou le variant non exprimé A5, qui correspondent à MLST5 ou une type *prn* indéterminé).

⁴ pas d'amplification des séquences *ptx*

Tableau 3: Type de séquence du promoteur de Ptx

| Année | Nombre d'isolats examinés | Séquence <i>ptxP</i> | | |
|-------|---------------------------|----------------------|----|----|
| | | 1 | 3 | 15 |
| 2012 | 64 | 1 | 61 | 2 |

Tabel 4: Sérotype

| Année | Nombre d'isolats examinés | Sérotype | | | |
|-------|---------------------------|----------|----|----|-----|
| | | 0 | 2 | 3 | 2,3 |
| 2012 | 64 | 5 | 20 | 17 | 22 |