

NATIONAAL REFERENTIECENTRUM VOOR *BORDETELLA PERTUSSIS*

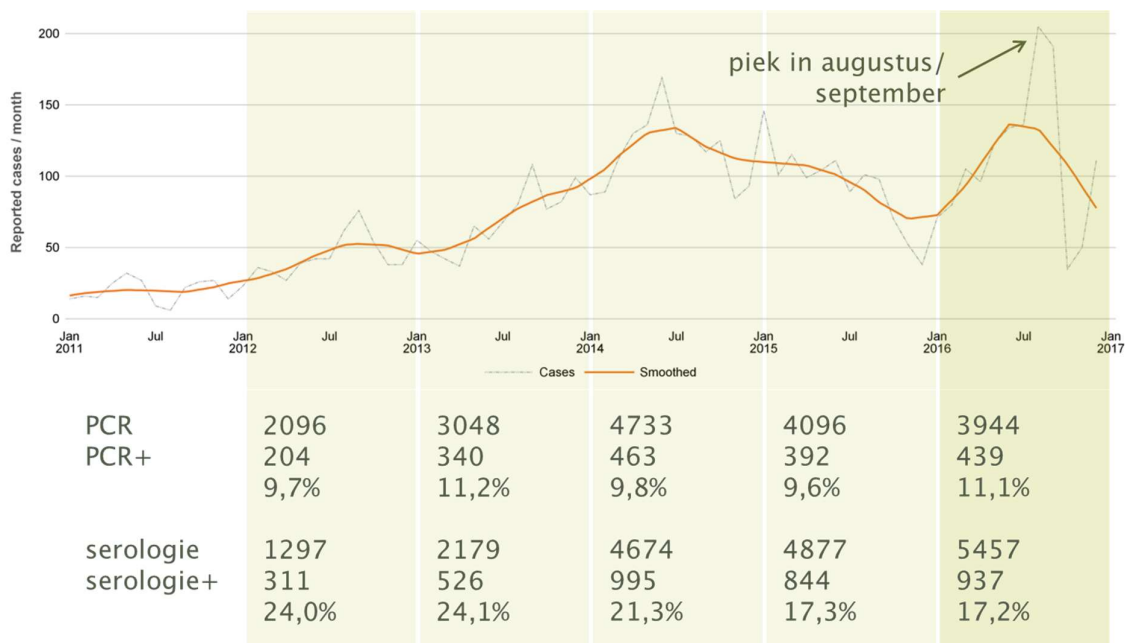
JAARLIJKS RAPPORT 2016

Afdeling Microbiologie, Nationaal Referentiecentrum voor *Bordetella pertussis*, Universitair Ziekenhuis Brussel, Vrije Universiteit Brussel (VUB), Laarbeeklaan 101, 1090 Brussel, België

Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid (WIV-ISP), Dienst Immunologie, Nationaal Referentiecentrum voor *Bordetella pertussis*, 642 Engelandstraat, 1180 Brussel, België

Introductie

In 2016 werden 1293 gevallen van *Bordetella pertussis* bevestigd door middel van laboratoriumdiagnose. Hiervan werden 356 gevallen enkel gedetecteerd door *real-time PCR* (qPCR), 854 enkel door serologisch onderzoek en 83 door beide methoden. (Fig. 1) Tevens werden 48 gevallen van *B. parapertussis* en 5 gevallen van *B. holmesii* gedetecteerd door qPCR. Drie hiervan maakten deel uit van een co-infectie: twee gevallen waren positief voor zowel *B. pertussis* als *B. parapertussis*, één geval was positief voor *B. pertussis* en *B. holmesii*.



Figuur 1: De grafiek toont de evolutie van het totale aantal laboratoriumbevestigde gevallen van kinkhoest. De onderstaande cijfers tonen het aantal aangevraagde analyses, alsook het aantal en percentage positieve resultaten, voor zowel detectie o.b.v. PCR als detectie o.b.v. serologie.

In totaal werden slechts 3944 qPCR-analyses uitgevoerd door het UZ Brussel, voor 3835 verschillende patiënten. Dit is minder dan in vorige jaren (4096 analyses in 2015 en 4733 in 2014). Desondanks was er een stijging van het aantal positieve resultaten in 2016: 439 of 11,1 %, in vergelijking met 392 of 9,6 % in 2015. Een gelijkaardige stijging is op te merken in het aantal positieve resultaten bekomen met behulp van serodiagnose. (Fig. 1)

Het aantal gevallen van *B. pertussis* vertoonde een sterke piek in augustus en september en was het laagst gedurende de wintermaanden. Dit seizoensgebonden patroon is typisch voor kinkhoest, hoewel het effect minder uitgesproken was in 2015. (Fig. 1)

Na qPCR-detectie van *B. pertussis* in een staal wordt er gepoogd de stam in kwestie in cultuur te brengen. De opbrengst hiervan was, net als in andere jaren, ongeveer 30 %. Er is een sterke correlatie tussen deze opbrengst en de Cp-waarde voor het *B. pertussis*-screeningtarget IS481. Voor Cp-waardes onder 20 was er een opbrengst van 74 %, voor Cp-waardes boven 30 was dit niet meer dan 10 %. In totaal werden 118 *B. pertussis*-stammen met succes in kweek gebracht. (Tabel 1)

	Cp (IS481)	Positieve PCR	Positieve cultuur	Opbrengst
<i>B. pertussis</i> -positief	Cp ≤ 20	62	46	74 %
	20 < Cp ≤ 25	50	25	50 %
	25 < Cp ≤ 30	82	35	43 %
	Cp > 30	125	12	10 %
		319	118	37 %
<i>B. sp.</i> -positief (vermoedelijk <i>B. pertussis</i>)	Cp ≤ 30	0		
	Cp > 30	120	0	0 %
		120	0	0 %
		439	118	27 %

Tabel 1: Verband tussen IS481-Cp-waarde bij qPCR en opbrengst in kweek.

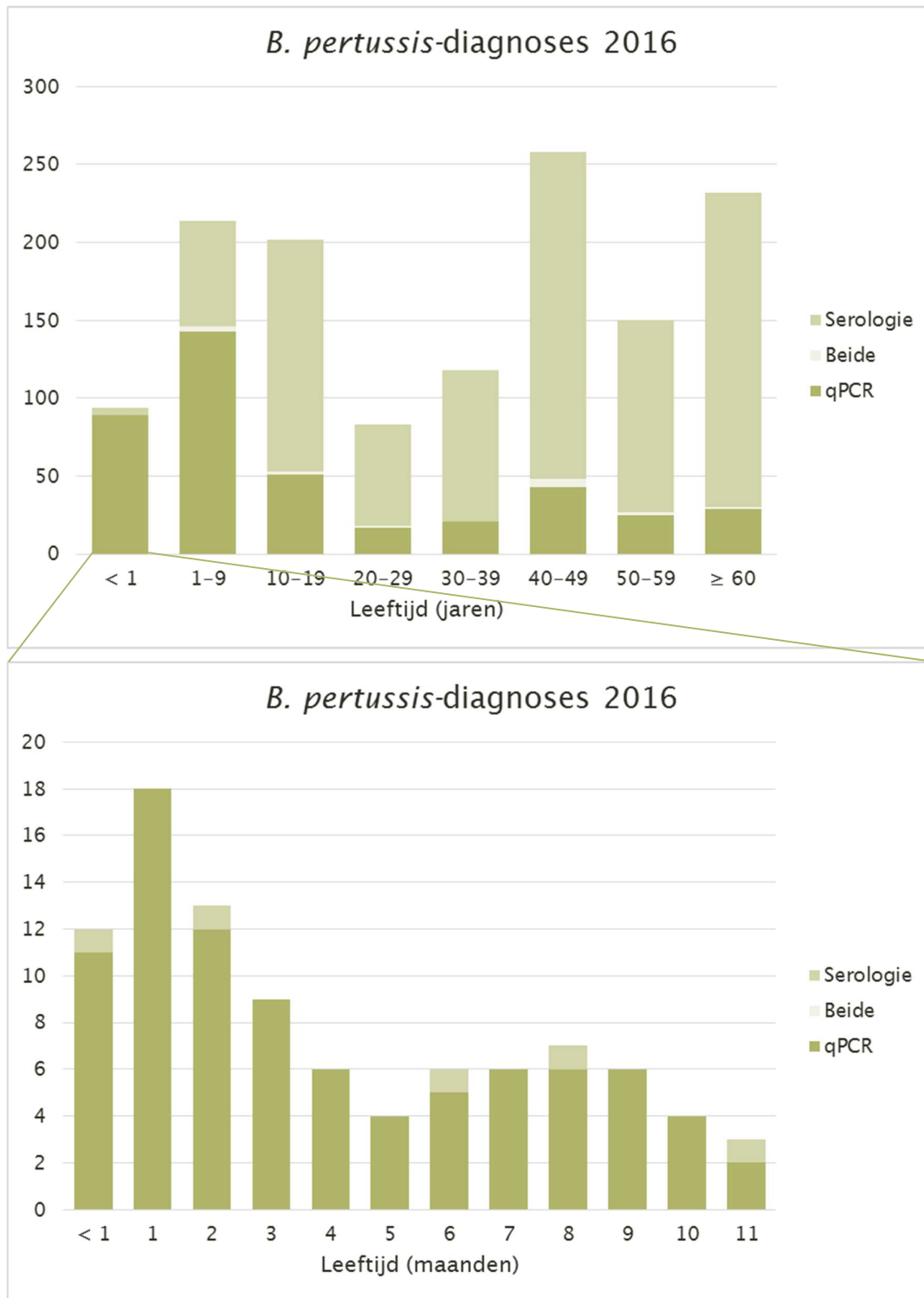
In totaal werd er in 2016 een stijging waargenomen van het aantal laboratoriumbevestigde gevallen van *B. pertussis*-infectie in België (1293, in vergelijking met 1185 in 2015).

Epidemiologie

De gevallen van *B. pertussis*-infectie gediagnosticeerd met behulp van qPCR en de gevallen gediagnosticeerd met behulp van serologie tonen een verschillende leeftijdsverdeling. Patiënten gediagnosticeerd met behulp van serologie zijn gemiddeld ouder. De mediaan en het bereik van de patiëntleeftijden per diagnostische methode kunnen teruggevonden worden in tabel 2. De leeftijdsverdeling wordt weergegeven in figuur 2.

	qPCR	Serologie	Totaal
Mediane leeftijd	8 j	43 j	37 j
Leeftijdsbereik	2 d - 86 j	20 d - 91 j	2 d - 91 j

Tabel 2: Mediane leeftijd en leeftijdsbereik van patiënten met laboratoriumbevestigde kinkhoest in 2016. Afkortingen: j (jaren), d (dagen).



Figuur 2: Leeftijdsdistributie van patiënten met laboratoriumbevestigde kinkhoest in 2016. .

Gevoeligheidsbepaling

Macrolideresistentie werd bepaald door middel van diskdiffusiegevoeligheidstests. Alle stammen waren gevoelig aan zowel erythromycine als sulfamethoxazol/trimethoprim.

Moleculaire typering

Verschillende virulentiegenen werden getypeerd met behulp van conventionele PCR of *real-time PCR* alsook, in sommige gevallen, *Sanger sequencing*: pertactine (*prn*), pertussistoxine subunit 1 (*ptxS1*) en 3 (*ptxS3*), tracheale kolonisatiefactor (*tcf*) en pertussistoxinepromotor (*ptxP*). Een multilocussequentietype werd toegekend gebaseerd op de resultaten voor *ptxS1*, *ptxS3* en *tcf* (Packard et al, 2004).

De genetische diversiteit blijft, net als vorige jaren, sterk beperkt: 98 van de 118 stammen zijn identiek voor alle virulentiegenen: *prn2*, MLST5 (*ptxS1A*, *ptxS3B*, *tcf2*), *ptxP3*. De meerderheid (14 van de 20) van de stammen die hiervan afwijken zijn pertactinenegatief volgens conventionele PCR. In tabellen 3-5 wordt de evolutie van de typeringsresultaten in België van 1987 tot 2016 weergegeven.

Jaar	Getypeerd	<i>prn1</i>	<i>prn2</i>	<i>prn3</i>	<i>prn4</i>	<i>prn9</i>	<i>prn11</i>	<i>prn15</i>	<i>prn-</i>
1987	7	1	3	2	0	1	0	0	0
1988	1	1	0	0	0	0	0	0	0
1989	5	0	4	1	0	0	0	0	0
1990	7	3	3	1	0	0	0	0	0
1991	10	2	3	5	0	0	0	0	0
1992	7	0	5	1	0	0	1	0	0
1993	6	0	2	4	0	0	0	0	0
1994	6	0	4	2	0	0	0	0	0
1995	4	0	1	2	0	1	0	0	0
1996	4	1	2	1	0	0	0	0	0
1997	12	1	2	9	0	0	0	0	0
1998	20	5	5	10	0	0	0	0	0
1999	34	1	20	13	0	0	0	0	0
2000	54	4	38	12	0	0	0	0	0
2001	49	2	44	3	0	0	0	0	0
2002	48	3	42	1	0	2	0	0	0
2003	40	1	36	2	1	0	0	0	0
2004	51	3	45	2	1	0	0	0	0
2005	69	1	66	2	0	0	0	0	0
2006	72	0	72	0	0	0	0	0	0
2007	67	0	66	1	0	0	0	0	0
2008	55	0	53	2	0	0	0	0	0
2009	54	1	52	0	0	1	0	0	0
2010	33	0	31	0	2	0	0	0	0
2011	30	0	29	0	0	0	0	0	1
2012	64	0	63	0	0	1	0	0	0
2013	95	0	92	0	0	3	0	0	0
2014	128	1	126	0	0	0	0	0	1
2015	109	4	95	0	0	2	0	1	7
2016	118	1	100	1	0	1	0	1	14

Tabel 3: Evolutie van pertactinegentypes. Het meest voorkomende type per jaar is gemarkeerd.

Jaar	Getypeerd	MLST2	MLST3	MLST4	MLST5	MLST6	MLST7	NT*
1987	7	0	7	0	0	0	0	0
1988	1	0	1	0	0	0	0	0
1989	5	0	5	0	0	0	0	0
1990	7	0	5	0	0	2	0	0
1991	10	0	5	3	0	2	0	0
1992	7	1	5	1	0	0	0	0
1993	6	0	3	3	0	0	0	0
1994	6	0	4	2	0	0	0	0
1995	4	0	3	1	0	0	0	0
1996	4	0	3	1	0	0	0	0
1997	12	1	0	9	2	0	0	0
1998	20	1	4	9	3	1	0	2
1999	34	0	5	13	16	0	0	0
2000	54	0	9	12	32	0	0	1
2001	49	0	10	1	37	0	0	1
2002	48	0	2	0	44	0	1	1
2003	40	0	5	2	33	0	0	0
2004	51	0	3	1	47	0	0	0
2005	69	0	1	0	66	0	0	2
2006	71	0	0	0	71	0	0	0
2007	0	0	0	0	0	0	0	0
2008	55	1	2	0	52	0	0	0
2009	52	0	1	0	50	0	0	1
2010	33	0	0	0	33	0	0	0
2011	28	0	1	0	27	0	0	0
2012	64	0	1	0	63	0	0	0
2013	94	0	1	0	93	0	0	0
2014	127	0	1	0	126	0	0	0
2015	109	0	5	0	102	0	0	2
2016	118	0	2	0	114	0	0	2

Tabel 4: Evolutie van MLST. Het meest voorkomende type per jaar is gemarkeerd.

*NT: niet typeerbaar (de combinatie van gentypes komt niet overeen met een van de MLS-types gedefinieerd door Packard et al, 2004).

Jaar	Getypeerd	<i>ptxP1</i>	<i>ptxP3</i>	<i>ptxP15</i>	NT*
1987	6	6	0	0	0
1988	1	1	0	0	0
1989	5	5	0	0	0
1990	7	7	0	0	0
1991	10	10	0	0	0
1992	7	7	0	0	0
1993	6	6	0	0	0
1994	6	6	0	0	0
1995	4	4	0	0	0
1996	4	4	0	0	0
1997	10	10	0	0	0
1998	12	8	2	0	2
1999	10	5	5	0	0
2000	10	4	6	0	0
2001	10	3	7	0	0
2002	10	3	7	0	0
2003	10	4	6	0	0
2004	10	3	7	0	0
2005	10	1	9	0	0
2006	11	0	10	0	1
2007	10	1	9	0	0
2008	10	2	8	0	0
2009	11	1	9	0	1
2010	9	0	9	0	0
2011	10	2	8	0	0
2012	64	1	61	2	0
2013	95	1	94	0	0
2014	128	1	127	0	0
2015	109	2	107	0	0
2016	118	1	117	0	0

Tabel 5: Evolutie van de pertussistoxinepromotorgentypes. Het meest voorkomende type per jaar is gemarkeerd. *NT: niet typeerbaar.

Conclusie

In 2016 werd een stijging waargenomen in laboratoriumbevestigde gevallen van *B. pertussis*-infectie.

Zoals reeds aangetoond in een vorige publicatie zijn qPCR en serologisch onderzoek complementaire diagnostische methodes voor de detectie van *B. pertussis* in respiratoire stalen. Hierbij is qPCR vooral nuttig bij de diagnose van jonge kinderen, terwijl serologisch onderzoek vooral *B. pertussis*-circulatie aantoonde onder oudere kinderen en volwassenen (Vincent et al, 2011).

De genetische diversiteit van de circulerende stammen blijft zeer beperkt. De meeste stammen behoren tot MLST5 en dragen *prn2* en *ptxP3*. Het aantal stammen dat geen amplificatie van *prn* vertoont is verdubbeld sinds 2015 en suggereert een stijging van het aantal circulerende pertactine-negatieve stammen in België.

Referenties:

Packard et al. Sequence variation and conservation in virulence related genes of *Bordetella pertussis* isolates from the UK. *Journal of Medical microbiology*, 2004, 53, p355-365.

Vincent et al. Pertussis serodiagnosis in Belgium from 1990 to 2009. *Clinical and Vaccine Immunology*, 2011, 18:588-94.