

CENTRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE POUR *BORDETELLA PERTUSSIS*

RAPPORT ANNUEL 2016

Département de Microbiologie, Centre National de Référence pour *Bordetella pertussis*, Universitair Ziekenhuis Brussel, Vrije Universiteit Brussel (VUB), Laarbeeklaan 101, 1090 Bruxelles, Belgique

Institut Scientifique de Santé Publique (WIV-ISP), Service Immunologie, Centre National de Référence pour *Bordetella pertussis*, 642 Engelandstraat, 1180 Bruxelles, Belgique

Introduction

En 2016, 1293 cas de *Bordetella pertussis* ont été confirmés par diagnostic au niveau du laboratoire. Parmi ceux-ci, 356 cas ont été détectés par *real-time PCR* (qPCR) uniquement, 854 par sérologie uniquement, et 83 par les deux méthodes. (Fig. 1) En plus, 48 cas de *B. parapertussis* et 5 cas de *B. holmesii* ont été détectés par qPCR. Trois de ces cas faisaient partie d'une coïnfection: deux cas étant positifs pour *B. pertussis* ainsi que *B. parapertussis* et un cas étant positif pour *B. pertussis* et *B. holmesii*.

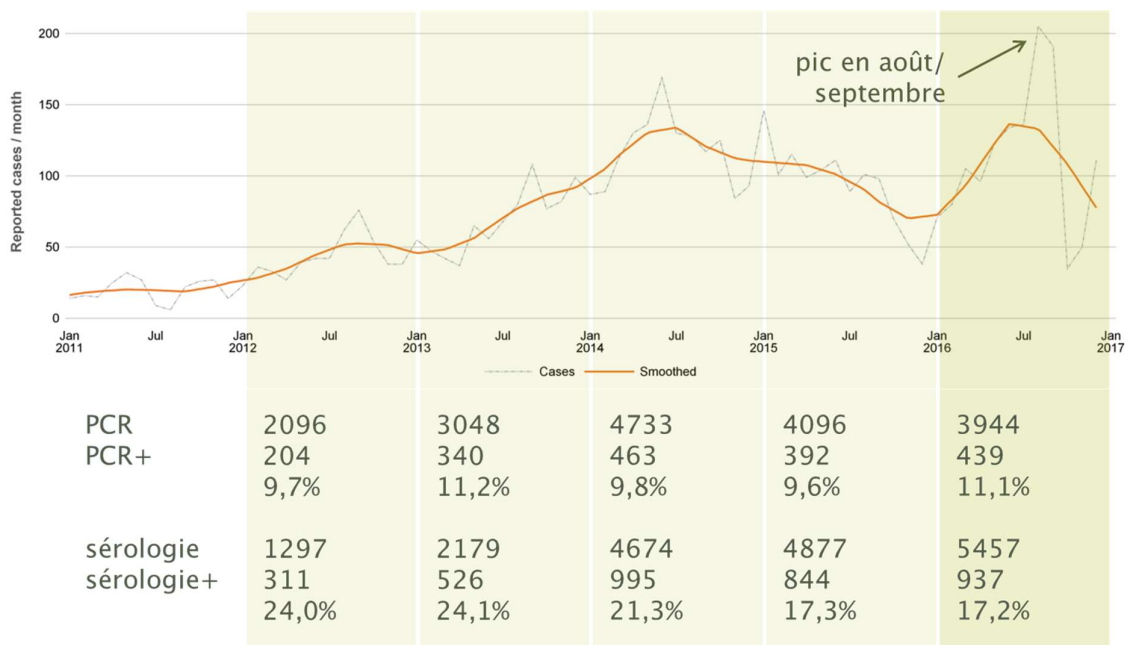


Figure 1: La graphique montre l'évolution du nombre total des cas de coqueluche. Les données en dessous montrent le nombre d'analyses demandées, et le nombre et pourcentage de résultats positifs, pour la diagnostic basé sur PCR et sur sérologie.

En total, seulement 3944 analyses par qPCR ont été effectuées par l'UZ Brussel, pour 3835 patients différents. Ceci est moins qu'en des années précédentes (4096 tests en 2015 et 4733 en 2014). Néanmoins, le nombre de diagnostics de *B. pertussis* par qPCR a augmenté en 2016: 439 soit 11,1%, comparé à 392 soit 9,6% en 2015. Le sérodiagnostic, effectué par le WIV-ISP, montre également une augmentation de cas positifs. (Fig. 1)

Le nombre de cas de *B. pertussis* atteint un pic prononcé en août et septembre, et est plus bas pendant les mois d'hiver. Ce motif saisonnier est typique pour l'occurrence de la coqueluche, même qu'il était moins prononcé en 2015. (Fig. 1)

Analogue aux autres années, le recouvrement en culture des souches de *B. pertussis*, tenté après détection par qPCR, étaient à peu près 30%. Il existe une corrélation entre ce recouvrement et la valeur Cp pour le cible IS481 du qPCR. Pour des valeurs Cp en dessous de 20 il y a un recouvrement de 74%, pour des valeurs Cp au-dessus de 30 ceci devient 10%. En total, 118 souches de *B. pertussis* ont été recouvrées. (Table 1)

	Cp (IS481)	PCR positif	Culture positive	Recouvrement
"Positif pour <i>B. pertussis</i> "	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%
"Positif pour <i>B. sp.</i> (probablement <i>B. pertussis</i>)"	Cp ≤ 30	0		
	Cp > 30	120	0	0%
		120	0	0%
		439	118	27%

Table 1: Relation entre valeur Cp IS481 par qPCR et recouvrement en culture.

Globalement, une augmentation du nombre total des cas confirmés de coqueluche était apparent en Belgique en 2016 (1293 comparé à 1185 en 2015).

Épidémiologie

Il y a une différence en répartition d'âge des patients de coqueluche en fonction de la technique utilisée pour la confirmation: qPCR ou sérologie. Des patients diagnostiqués par sérologie sont généralement plus âgés. L'âge médiane et la portée d'âge est montré dans la table 2, la répartition d'âge est montré dans la figure 2.

	qPCR	Sérologie	Total
Âge médiane	8 a	43 a	37 a
Portée d'âge	2 j - 86 a	20 j - 91 a	2 j - 91 a

Table 2: Âge médiane et portée d'âge des patients avec coqueluche confirmé en 2016. Abréviations: a (années), j (jours).

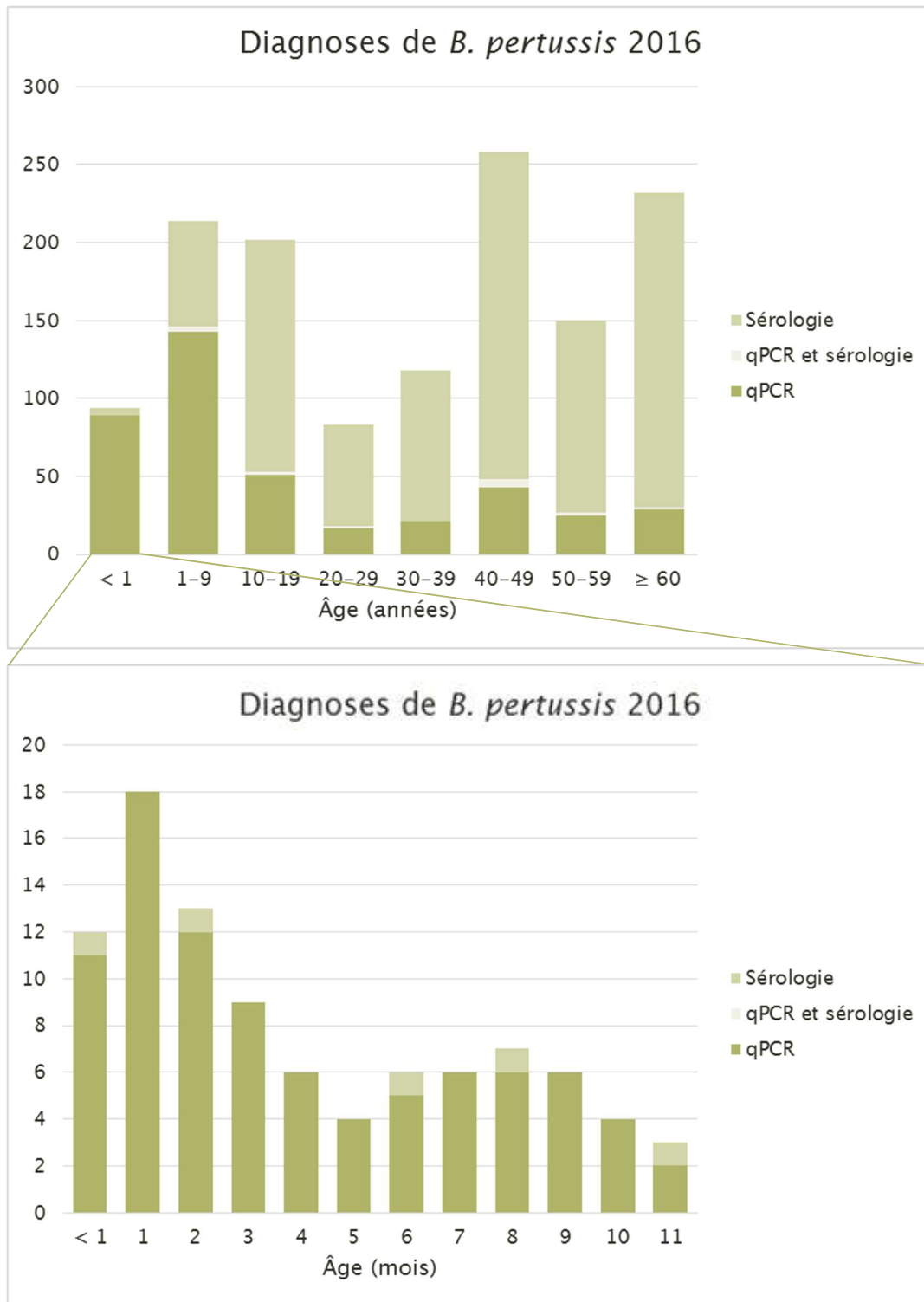


Figure 2: Répartition d'âge des patients de coqueluche confirmé en 2016.

Sensibilité aux antibiotiques

La résistance aux macrolides a été déterminée par la méthode d'analyse de susceptibilité bactérienne de *disk diffusion*. Toutes les souches ont été trouvées sensibles à l'érythromycine ainsi que le sulfaméthoxazole/triméthoprime.

Typage moléculaire

Le PCR conventionnelle ou le *real-time PCR*, ainsi que le *Sanger sequencing*, ont été utilisés pour le typage de différents gènes de virulence: pertactine (*prn*), les sous-unités 1 et 3 de la toxine pertussique (*ptxS1*, *ptxS3*), le facteur de colonisation trachéal (*tcf*), et le promoteur de la toxine pertussique (*ptxP*). Un type de séquence multilocus est déterminé par les résultats pour *ptxS1*, *ptxS3*, et *tcf* (Packard et al, 2004).

La diversité génétique reste limitée, comme dans des années précédentes : 98 des 118 souches sont identiques pour tous les gènes de virulence typés : *prn2*, MLST5 (*ptxS1A*, *ptxS3B*, *tcf2*), *ptxP3*. La plupart (14 sur 20) des souches restantes sont négatives pour la pertactine selon le PCR conventionnelle. Tables 3-5 montrent l'évolution des résultats de typage en Belgique de 1987 au 2016.

Année	Typé	<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

Table 3: Évolution des types de gène pertactine. Le type le plus présent par an est marqué.

Année	Typé	MLST2	MLST3	MLST4	MLST5	MLST6	MLST7	PT*
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

Table 4: Évolution du MLST. Le type le plus présent par an est marqué.

*PT: pas typable (combinaison des types de gène ne correspond pas à un MLST définie par Packard et al, 2004).

Année	Typé	<i>ptxP1</i>	<i>ptxP3</i>	<i>ptxP15</i>	PT*
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

Table 5: Évolution des types de gène promoteur de la toxine pertussique. Le type le plus présent par an est marqué. * PT: pas typable.

Conclusion

En 2016 une augmentation des cas confirmés d'infection de *B. pertussis* a eu lieu.

Comme démontré dans une publication précédente, le qPCR et la sérologie sont des méthodes diagnostiques complémentaires pour la détection de *B. pertussis* dans les échantillons respiratoires. Le qPCR est principalement utile pour la diagnostique chez les enfants petits, la sérologie montre la circulation de *B. pertussis* chez les enfants plus âgés et les adultes (Vincent et al, 2011).

La diversité génétique des souches circulantes reste très limitée, avec la plupart des souches appartenant au MLST5 et portant *prn2* et *ptxP3*. Le nombre des souches qui ne montrent pas d'amplification du *prn* a doublé depuis 2015 et suggère une augmentation des souches pertactine-négatives circulant en Belgique.

Références:

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.