

NATIONAAL REFERENTIECENTRUM VOOR *BORDETELLA PERTUSSIS*

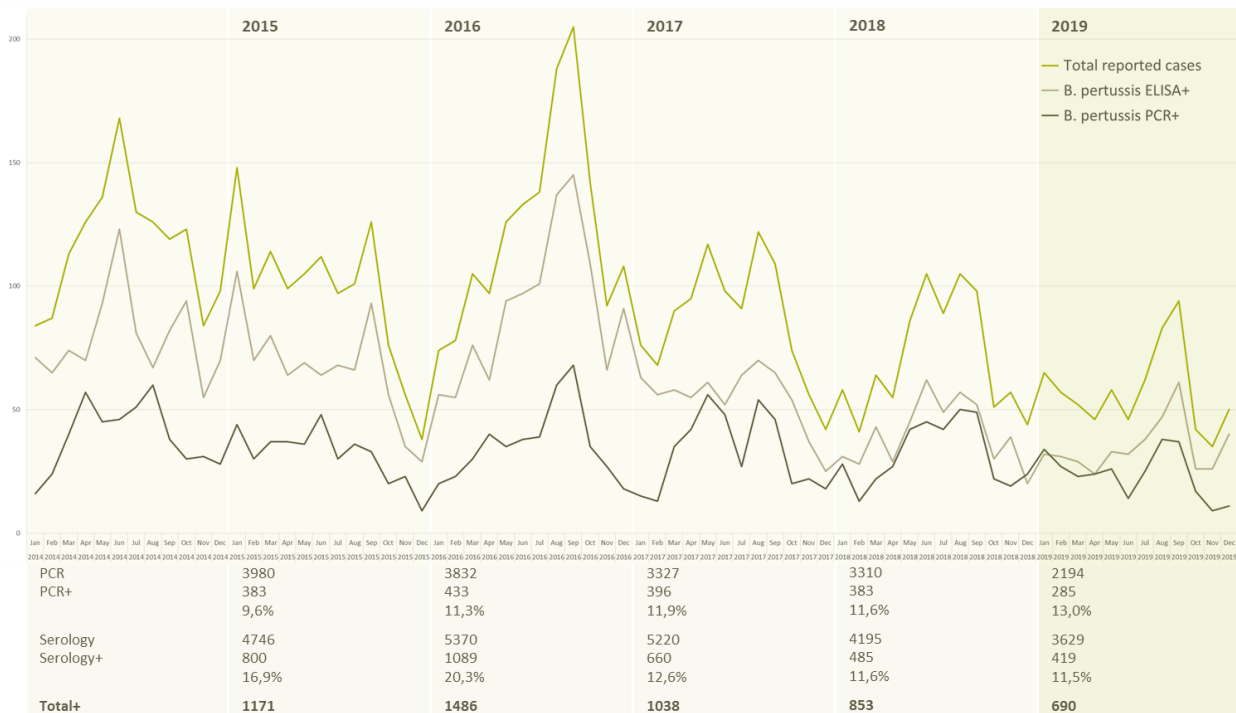
JAARLIJKS RAPPORT 2019

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

Sciensano, Dienst Immunologie, Nationaal Referentiecentrum voor *Bordetella pertussis*, Juliette Wytsmanstraat 14, 1050 Brussel, België

Introductie

In 2019 werden 690 gevallen van *Bordetella pertussis* bevestigd door middel van laboratoriumdiagnose. Hiervan werden er 271 enkel gedetecteerd door *real-time* PCR (qPCR), 405 enkel door serologisch onderzoek en 14 door beide methoden (Fig. 1). Tevens werden er 22 gevallen van *B. parapertussis* gedetecteerd door qPCR, alsook 4 gevallen van andere *Bordetella* spp. (2 keer *B. holmesii*, 1 keer *B. bronchiseptica* en 1 niet-gespecificeerde sp.).



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

In totaal werden 2236 qPCR-analyses uitgevoerd door het UZ Brussel, voor 2194 verschillende patiënten. Dit is beduidend minder dan in vorige jaren, wat hoofdzakelijk te wijten is aan de wijziging in tarifiering van de diagnostische PCR voor *B. pertussis* (art. 24bis), die in voege ging op 1 april 2019. Door deze daling lag ook het absolute aantal positieve resultaten laag, maar procentueel is dit gestegen, van 11,6 % naar 13,0 % (Fig. 1). Ook dit is waarschijnlijk het gevolg van de wijziging in tarifiering, die ervoor moet zorgen dat er gericht wordt getest.

Zowel het aantal uitgevoerde serologische tests als het aantal positieve resultaten hiervan daalde slechts licht, met een nagenoeg gelijkwaardig percentage positieve resultaten (11,6 % in 2018 en 11,5 % in 2019) (Fig. 1).

Na qPCR-detectie van *B. pertussis* in een staal wordt er gepoogd de stam in kwestie in cultuur te brengen en te isoleren. De opbrengst hiervan ligt meestal iets onder de 30 %, in 2019 was dit 26 %. Er is een sterke correlatie tussen deze opbrengst en de Cp-waarde voor het *B. pertussis*-screeningtarget IS481. Voor Cp-waardes onder 30 was er een opbrengst van 48 %, voor Cp-waardes boven 30 was dit slechts 11 % voor geconfirmeerde stalen, 0 % voor niet-geconfirmeerde. In totaal werden 76 *B. pertussis*-stammen van 73 patiënten met succes in kweek gebracht. (Tabel 1).

	Cp (IS481)	Positieve PCR	Positieve cultuur	Opbrengst
<i>B. pertussis</i> -positief	Cp ≤ 20	46	31	67 %
	20 < Cp ≤ 25	35	20	57 %
	25 < Cp ≤ 30	56	15	27 %
	Cp > 30	89	10	11 %
		226	76	34 %
<i>B. sp.</i> -positief (vermoedelijk <i>B. pertussis</i>)	Cp ≤ 30	0		
	Cp > 30	67	0	0 %
		67	0	0 %
		293	76	26 %

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

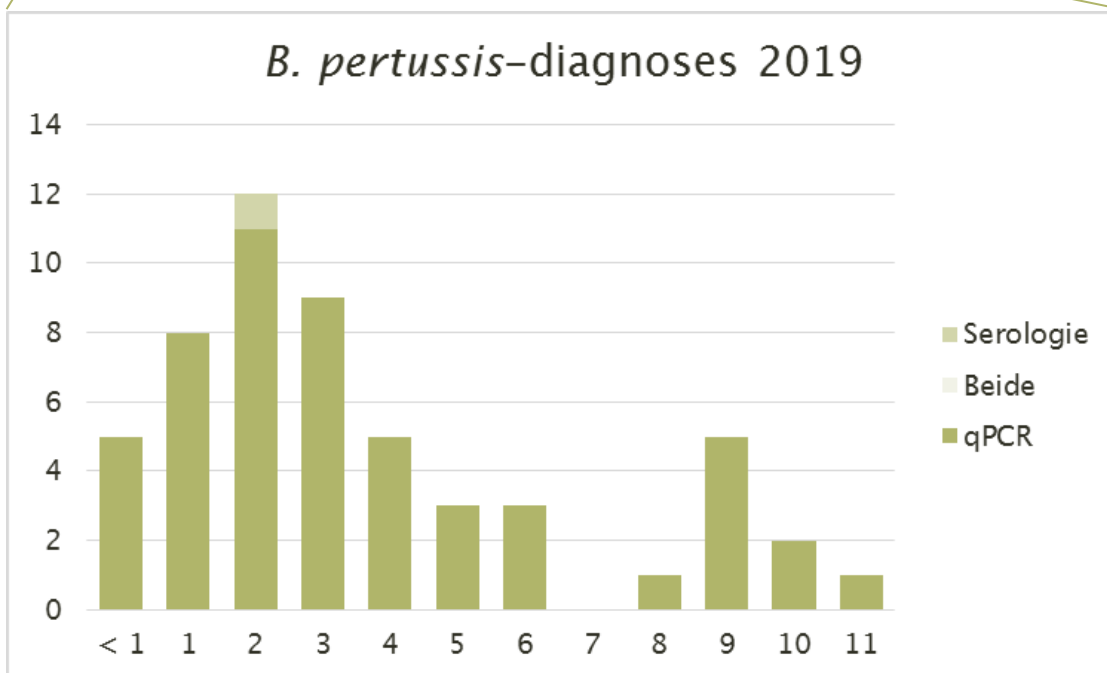
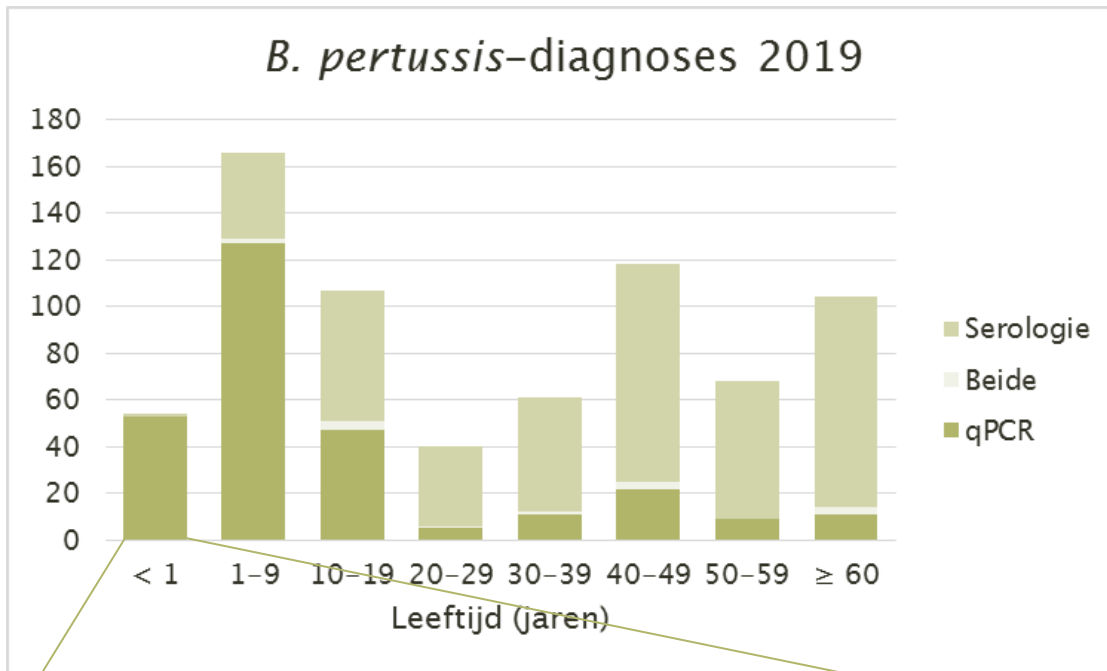
In totaal werd er in 2019 een daling waargenomen van het aantal laboratoriumbevestigde gevallen van *B. pertussis*-infectie in België (690, in vergelijking met 853 in 2018).

Epidemiologie

De gevallen van *B. pertussis*-infectie gediagnosticeerd met behulp van qPCR en de gevallen gediagnosticeerd met behulp van serologie tonen een verschillende leeftijdsdistributie. 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 leeftijdsdistributie wordt weergegeven in figuur 2.

	qPCR	Serologie	Totaal
Mediane leeftijd	6 j	44 j	29 j
Leeftijdsbereik	22 d – 87 j	2 m – 88 j	22 d – 88 j

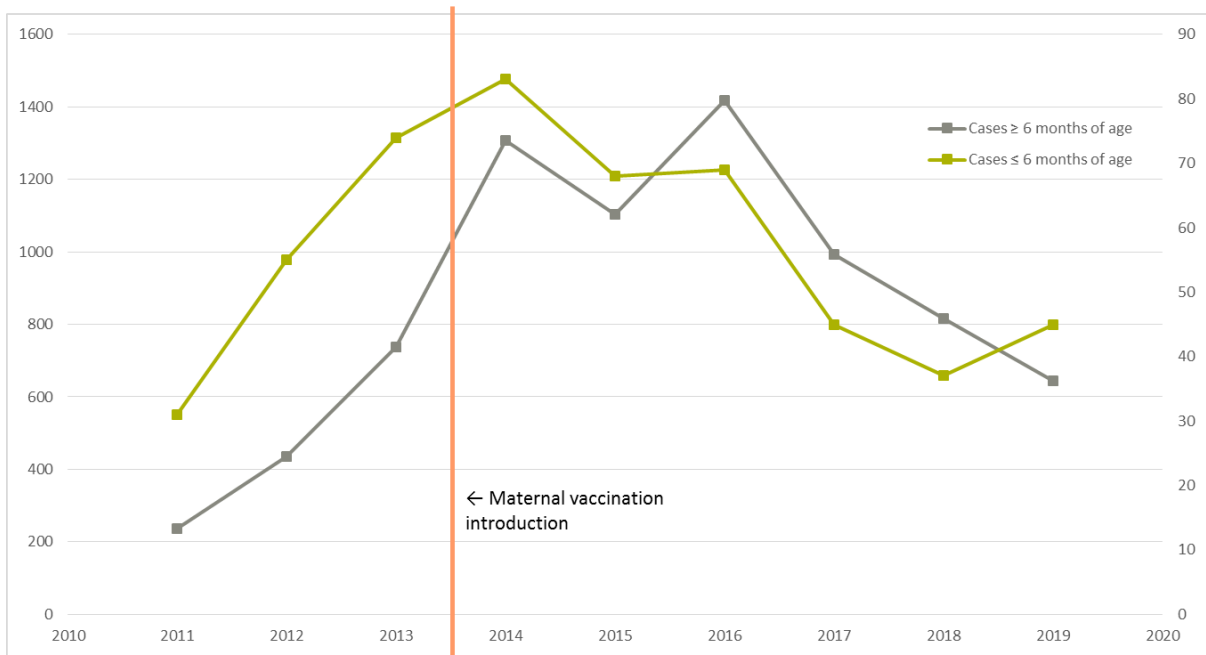
Tabel 2: Mediane leeftijd en leeftijdsbereik van patiënten met laboratoriumbevestigde kinkhoest in 2019. Afkortingen: j (jaren), d (dagen).



Figuur 2: Leeftijdsdistributie van patiënten met laboratoriumbevestigde kinkhoest in 2019.

In augustus 2013 werd in België de zwangerschapsvaccinatie tegen *B. pertussis* geïntroduceerd (Maertens et al, 2016). Figuur 3 toont de evolutie van het aantal bevestigde gevallen voor kinderen onder de 6 maand oud in contrast met de gevallen bij oudere patiënten.

Hoewel er een daling optreedt bij beide groepen, daalt het aantal infecties bij de groep jonge kinderen kort na de introductie van het zwangerschapsvaccin sterker dan dat bij de oudere groep. In 2019 keert dit fenomeen zich weer om, maar dit kan verklaard worden door het feit dat bij jonge kinderen de diagnose hoofdzakelijk via PCR verloopt, terwijl PCR in 2019 veel minder uitgevoerd werd.



Figuur 3: Evolutie van pertussisinfecties bij verschillende leeftijdsgroepen, sinds introductie van zwangerschapsvaccinatie in België.

Gevoeligheidsbepaling

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

Moleculaire typering en expressie van virulentiefactoren

Voor 73 stammen werden verschillende virulentiegenen getypeerd met behulp van whole genome sequencing (WGS): pertussistoxine subunit 1 (*ptxS1*) en 3 (*ptxS3*), tracheale kolonisatiefactor (*tcfA*), pertussistoxinepromotor (*ptxP*) en pertactine (*prn*). De expressie van Prn alsook het serotype werden bepaald d.m.v. ELISA.

De stammen hadden allemaal of bijna allemaal hetzelfde type *ptxS1*, *ptxS3*, *tcfA* en *ptxP*. Er was enige variatie in het serotype (iets meer Fim2 dan Fim3). Er waren veel stammen pertactine-deficiënt: 41 stammen vertoonden geen Prn-expressie (24 hiervan waren ook genotypisch *prn*-negatief).

Tabel 3 toont een overzicht van de typeringsresultaten sinds 1987. Er is zeer weinig genetische variatie tussen de circulerende stammen.

Year	prn 1	prn 2	prn 3	other type	prn -	ptxS1 A	ptxS1 B	ptxS3 A	ptxS3 B	tcfA 2	tcfA 3	other type	tcfA -	ptxP 1	ptxP 3	ptxP 15	Fim 2	Fim 3	Fim 2,3	Fim 0	Prn +	Prn -	ERY R	ERY S	SxT R	SxT S
1987	1	3	2	1	0	7	0	7	0	7	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1988	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1989	0	4	1	0	0	5	0	5	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1990	3	3	1	0	0	7	0	7	0	5	0	2	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1991	2	3	5	0	0	10	0	10	0	5	3	2	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1992	0	5	1	1	0	6	1	7	0	6	1	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1993	0	2	4	0	0	6	0	6	0	3	3	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1994	0	4	2	0	0	6	0	6	0	4	2	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1995	0	1	2	1	0	4	0	4	0	3	1	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1996	1	2	1	0	0	4	0	4	0	3	1	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1997	1	2	9	0	0	11	1	10	2	3	9	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1998	5	4	9	0	0	17	1	14	4	7	9	1	1	9	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1999	1	19	11	0	0	31	0	16	15	20	11	0	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2000	4	38	12	0	0	54	0	22	32	41	12	0	1	5	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2001	2	42	3	0	0	47	0	10	37	45	1	0	1	3	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2002	2	41	1	1	0	45	0	4	41	43	0	1	1	3	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2003	1	33	2	1	0	37	0	7	30	35	2	0	0	4	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2004	3	45	1	1	0	50	0	4	46	49	1	0	0	3	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2005	1	66	2	0	0	69	0	1	68	67	0	2	0	1	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2006	0	71	0	0	0	71	0	0	71	70	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2007	0	64	1	0	0	65	0	1	64	0	0	0	0	1	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2008	0	51	2	0	0	53	0	3	50	53	0	0	0	2	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2009	1	52	0	1	0	54	0	1	53	51	0	0	1	1	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2010	0	30	0	2	0	32	0	0	32	32	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2011	0	29	0	0	1	28	1	2	27	30	0	0	0	2	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2012	0	61	0	1	0	62	0	0	62	62	0	0	0	0	60	2	19	16	22	5	0	0	0	62	0	0
2013	0	90	0	4	0	94	0	1	93	93	0	0	0	1	93	0	42	48	2	0	14	1	0	94	0	0
2014	1	125	0	0	1	127	0	1	126	126	0	0	0	1	126	0	57	67	0	0	12	3	0	127	0	0
2015	4	94	0	3	7	108	0	5	103	106	0	2	0	2	106	0	24	29	1	0	6	1	0	108	0	108
2016	1	100	1	2	14	118	0	2	116	116	0	2	0	1	117	0	0	0	0	0	0	0	0	118	0	118
2017	1	52	0	9	35	97	0	0	97	93	0	2	2	0	97	0	48	47	0	0	43	54	0	97	0	97
2018	0	45	0	12	43	100	0	0	100	99	0	0	1	0	100	0	30	63	3	3	35	65	0	100	0	100
2019	0	45	0	4	24	72	0	0	73	72	0	1	0	0	73	0	40	33	0	0	32	41	0	73	0	73

Tabel 3: Overzicht van alle typeringsresultaten sinds 1987. De meest frequente types per jaar zijn gemarkeerd. De recente pertactine-negatieve resultaten zijn aangeduid in het rood.

Conclusie

In 2019 vond er een belangrijke daling plaats van het aantal aangevraagde diagnostische PCR-analyses voor *B. pertussis*, naar aanleiding van de wijziging in facturering volgens artikel 24bis, die inging in april 2019. Dit ging gepaard met een lichte stijging in het percentage pertussispositieve analyses, aangezien er door de wijziging gericht wordt getest. Dit effect weegt echter niet op tegen de sterke daling in analyses, waardoor het absolute aantal pertussispositieven daalt.

Er is een zeer beperkte genetische diversiteit onder de circulerende *B. pertussis*-stammen in België, zonder macrolideresistentie. Er is echter sinds een paar jaar een duidelijke stijging aan de gang van het aantal pertactine-negatieve stammen, net als in andere Europese landen.

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 aantoont onder oudere kinderen en volwassenen (Vincent et al, 2011).

Referenties:

Maertens et al. Pertussis vaccination during pregnancy in Belgium: Results of a prospective controlled cohort study. *Vaccine*, 2016, 34:142-150.

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