

CENTRE NATIONAL DE REFERENCE POUR *BORDETELLA PERTUSSIS*

RAPPORT ANNUEL 2022-2023

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

Sciensano, Service d'Immunologie, Centre National de Référence pour *Bordetella pertussis*, Juliette Wytsmanstraat 14, 1050 Bruxelles, Belgique

Dénombrement des cas

L'incidence de l'infection à *B. pertussis* connaît typiquement un cycle, avec un pic tous les 3 à 5 ans (Clark, 2014). De plus, on constate un pic annuel pendant les mois d'été. La Belgique a montré une telle évolution jusqu'il y a quelques années, avec un pic en 2016 où le CNR a confirmé 1486 cas d'infection à *B. pertussis*. Celui-ci a été suivi par une diminution progressive, mais pas inattendue. De plus, le remboursement de la PCR diagnostique a été modifié en 2019 (art. 24bis). Cette modification a entraîné une sélection plus importante des indications, avec pour conséquence une diminution du nombre de tests effectués.

En 2020, les mesures prises dans le cadre de l'épidémie de COVID-19 ont causé une diminution très importante du nombre de cas de coqueluche en Belgique et dans le monde. De la mi-2020 à mi-2022 seulement quelques cas ont été confirmés par le CNR. Ce n'est qu'à partir de la moitié de 2022 que l'on a pu constater une légère augmentation du nombre de cas.

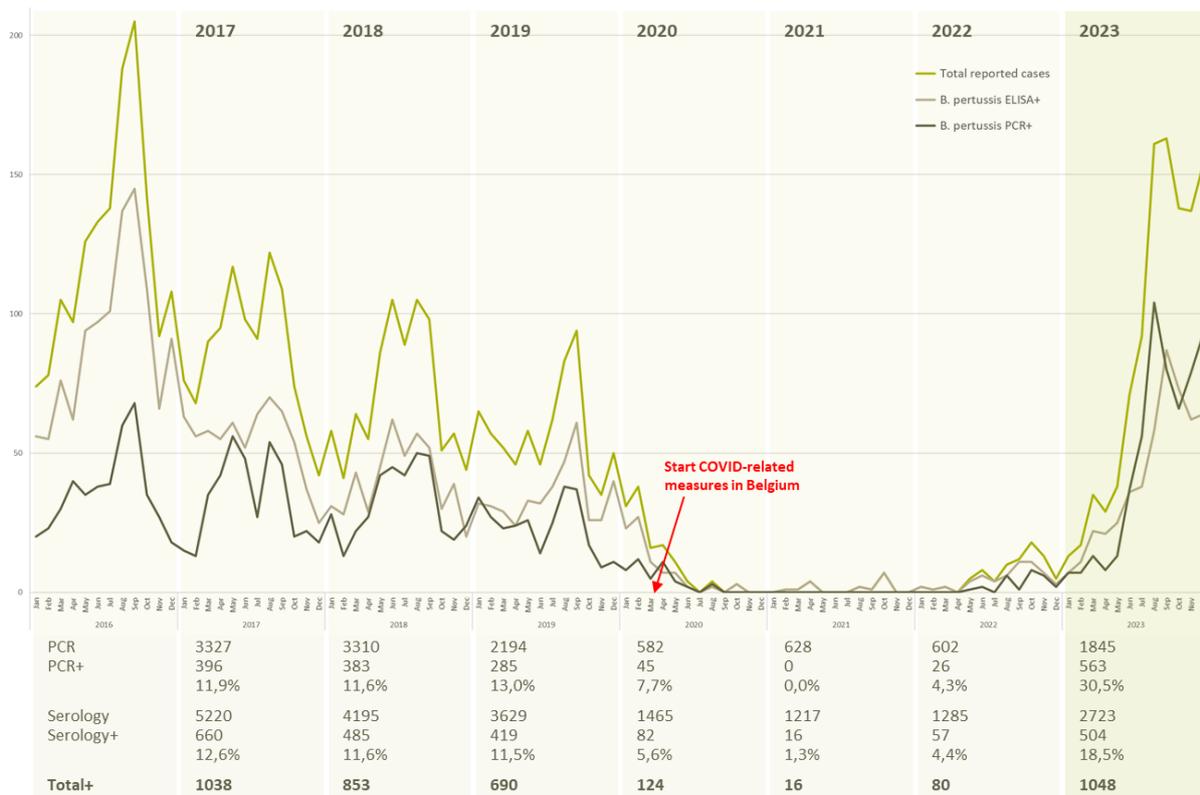


Figure 1: Le graphique montre l'évolution du nombre de cas de coqueluche confirmés par le CNR. Les chiffres du bas montrent le nombre de patients ainsi que le nombre et le pourcentage de résultats positifs, aussi bien par la PCR que par la sérologie.

En 2023, aussi bien le nombre de demandes d'analyses que le nombre et le pourcentage des cas positifs pour la coqueluche ont augmenté très rapidement. Le CNR a confirmé au total 1048 cas d'infection à *B. pertussis*.

En 2022 et 2023, on constate une augmentation anormale des cas de PCR positive pour *B. parapertussis*. En 2023, 221 cas d'infection à *B. parapertussis* ont été dénombrés par le CNR. Toutefois, plus de 90% de ces résultats étaient faiblement positifs qui sont restés négatifs en culture. Il s'agit probablement de résultats faussement positifs liés à une possible contamination du matériel de prélèvement. En effet, le 19 octobre 2021, la firme Copan a alerté ses utilisateurs au sujet d'une probable contamination de ses eSwab®, largement utilisés en Belgique pour le prélèvement des échantillons cliniques, ce qui peut expliquer des résultats faussement positifs en qPCR pour *B. parapertussis*, (mais PAS pour *B. pertussis*). (Copan, 21/10/2021).

Après détection de *Bordetella* sp. dans un échantillon, on le met en culture afin d'essayer d'isoler la bactérie. La sensibilité de cette culture est néanmoins assez basse. En 2022, 3 souches de *B. pertussis* ont pu être isolées et conservées sur 26 échantillons positifs en PCR et en 2023, 90 souches sur 563 échantillons positifs en PCR.

Epidémiologie

Habituellement, on constate une différence dans la distribution d'âge des cas détectés par PCR et ceux détectés par la sérologie. La médiane et les extrêmes des âges des patients selon la technique utilisée pour le diagnostic sont mentionnés au tableau 1 ainsi que dans la figure 2.

| | qPCR | Sérologie | Total |
|------------|-------------|------------|-------------|
| Age médian | 6 a | 13 a | 9 a |
| Extrêmes | 17 j - 95 a | 3 m - 84 a | 17 j - 95 a |

Tableau 1: Age médian et extrêmes des patients atteints de coqueluche confirmée en 2023. Abréviations: a (année) m (mois) j (jours)

Les patients dont le diagnostic a été posé au moyen de la sérologie sont en moyenne plus âgés. En 2019, l'âge médian des patients diagnostiqués par sérologie était de 44 ans. En 2023, cette médiane est nettement plus basse, à 13 ans. Les tests sérologiques positifs étaient surtout plus nombreux chez les patients de plus de 1 an et les adolescents.

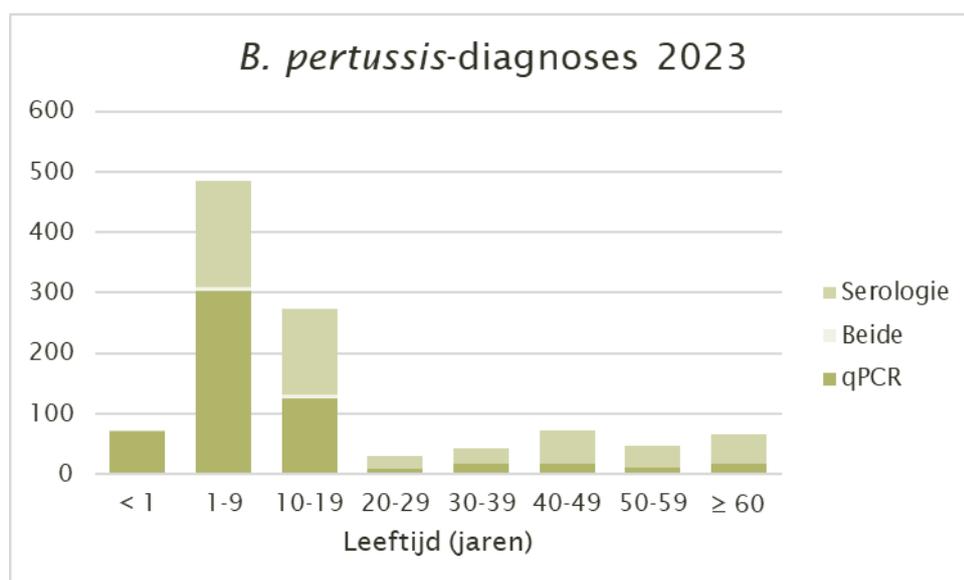


Figure 2: Distribution d'âge des patients atteints de coqueluche confirmée par le CNR en 2023.

Sensibilité aux antibiotiques

La résistance aux macrolides a été testée par la technique de diffusion en disques. Toutes les souches étaient sensibles aussi bien aux macrolides qu'à la combinaison sulfaméthoxazole-triméthoprim. La présence de la mutation A204G dans le gène 23S-rRNA, qui est associée à la résistance aux macrolides a également été recherchée. Cette mutation n'était présente dans aucune des souches.

Typage moléculaire

Plusieurs gènes de virulence des 92 souches isolées en 2022 et 2023 ont été typés par la technique de séquençage du génome entier (whole genome sequencing, WGS): sous-unités S1 et S3 du gène de la toxine pertussis, (*ptxS1*) et 3 (*ptxS3*), le facteur de colonisation trachéal (*tcfA*), le promoteur de la toxine pertussis (*ptxP*) et la pertactine (*prn*).

Comme en 2020, aucune variation des gènes *ptxS1*, *ptxS3*, *tcfA* et *ptxP* n'a été constatée. Toutes les souches ont conservé les types qui étaient déjà majoritaires.

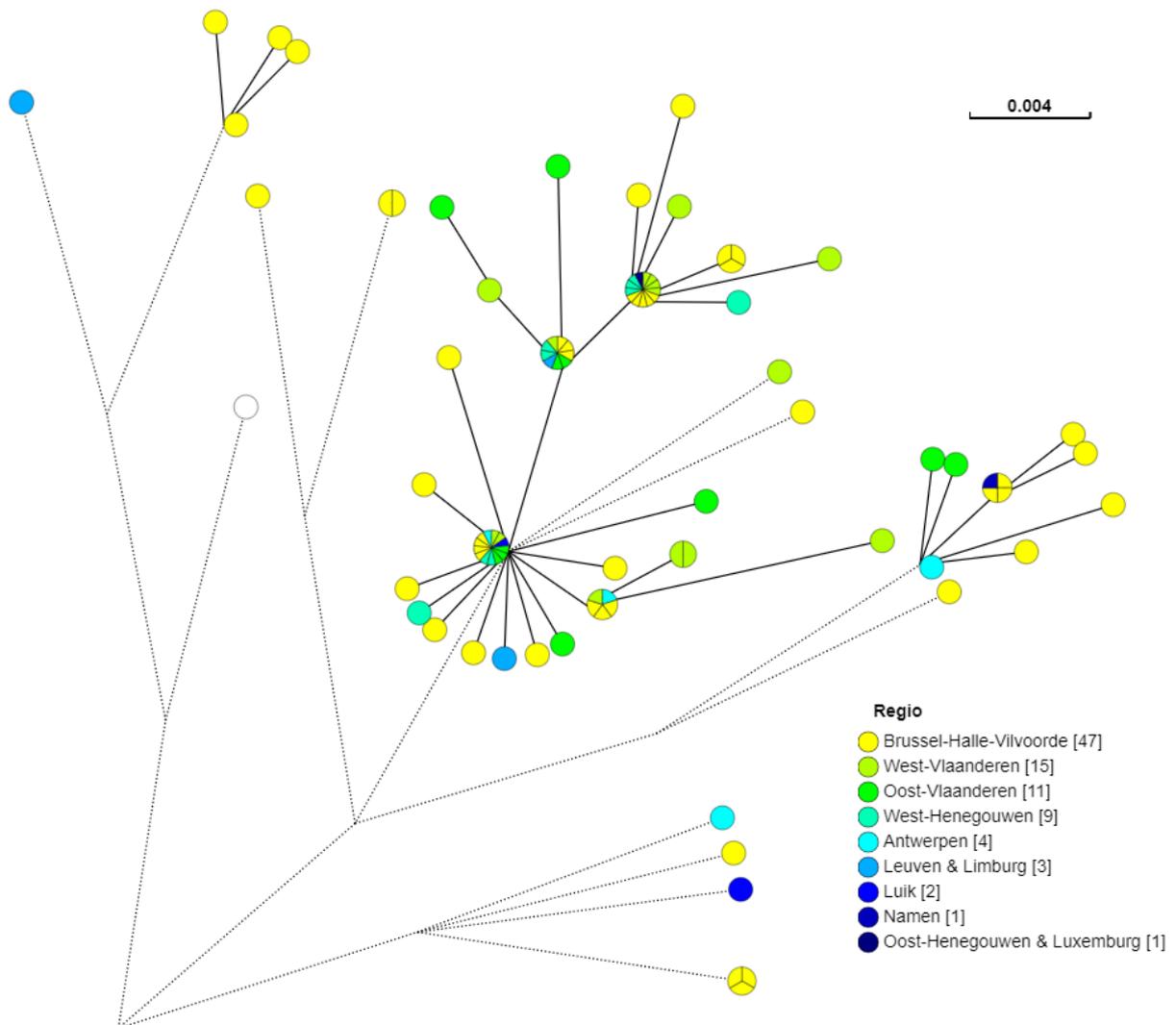
Il est également frappant de constater que presque toutes les souches possédaient le même type de pertactine. 87 souches portaient le gène *prn* de type 2 et seulement 5 portaient le *prn* de type 1. Là où nous constatons au cours des années précédant 2021 une forte augmentation de souches présentant des délétions ou des mutations du gène de la pertactine, celles-ci ne sont plus présentes.

| Year | <i>prn</i> 1 | <i>prn</i> 2 | <i>prn</i> 3 | <i>other</i> type | <i>prn</i> - | <i>ptxS1</i> A | <i>ptxS1</i> B | <i>ptxS3</i> A | <i>ptxS3</i> B | <i>tcfA</i> 2 | <i>tcfA</i> 3 | <i>other</i> type | <i>tcfA</i> - | <i>ptxP</i> 1 | <i>ptxP</i> 3 | <i>ptxP</i> 15 |
|------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|----------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
| 1987 | 1 | 3 | 2 | 1 | 0 | 7 | 0 | 7 | 0 | 7 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 |
| 1988 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 1989 | 0 | 4 | 1 | 0 | 0 | 5 | 0 | 5 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 |
| 1990 | 3 | 3 | 1 | 0 | 0 | 7 | 0 | 7 | 0 | 5 | 0 | 2 | 0 | 7 | 0 | 0 |
| 1991 | 2 | 3 | 5 | 0 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 5 | 3 | 2 | 0 | 10 | 0 | 0 |
| 1992 | 0 | 5 | 1 | 1 | 0 | 6 | 1 | 7 | 0 | 6 | 1 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 |
| 1993 | 0 | 2 | 4 | 0 | 0 | 6 | 0 | 6 | 0 | 3 | 3 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 |
| 1994 | 0 | 4 | 2 | 0 | 0 | 6 | 0 | 6 | 0 | 4 | 2 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 |
| 1995 | 0 | 1 | 2 | 1 | 0 | 4 | 0 | 4 | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 |
| 1996 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 4 | 0 | 4 | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 |
| 1997 | 1 | 2 | 9 | 0 | 0 | 11 | 1 | 10 | 2 | 3 | 9 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 |
| 1998 | 5 | 4 | 9 | 0 | 0 | 17 | 1 | 14 | 4 | 7 | 9 | 1 | 1 | 9 | 3 | 0 |
| 1999 | 1 | 19 | 11 | 0 | 0 | 31 | 0 | 16 | 15 | 20 | 11 | 0 | 0 | 5 | 5 | 0 |
| 2000 | 4 | 38 | 12 | 0 | 0 | 54 | 0 | 22 | 32 | 41 | 12 | 0 | 1 | 5 | 6 | 0 |
| 2001 | 2 | 42 | 3 | 0 | 0 | 47 | 0 | 10 | 37 | 45 | 1 | 0 | 1 | 3 | 8 | 0 |
| 2002 | 2 | 41 | 1 | 1 | 0 | 45 | 0 | 4 | 41 | 43 | 0 | 1 | 1 | 3 | 8 | 0 |
| 2003 | 1 | 33 | 2 | 1 | 0 | 37 | 0 | 7 | 30 | 35 | 2 | 0 | 0 | 4 | 6 | 0 |
| 2004 | 3 | 45 | 1 | 1 | 0 | 50 | 0 | 4 | 46 | 49 | 1 | 0 | 0 | 3 | 6 | 0 |
| 2005 | 1 | 66 | 2 | 0 | 0 | 69 | 0 | 1 | 68 | 67 | 0 | 2 | 0 | 1 | 9 | 0 |
| 2006 | 0 | 71 | 0 | 0 | 0 | 71 | 0 | 0 | 71 | 70 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 |
| 2007 | 0 | 64 | 1 | 0 | 0 | 65 | 0 | 1 | 64 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 9 | 0 |
| 2008 | 0 | 51 | 2 | 0 | 0 | 53 | 0 | 3 | 50 | 53 | 0 | 0 | 0 | 2 | 8 | 0 |
| 2009 | 1 | 52 | 0 | 1 | 0 | 54 | 0 | 1 | 53 | 51 | 0 | 0 | 1 | 1 | 9 | 0 |
| 2010 | 0 | 30 | 0 | 2 | 0 | 32 | 0 | 0 | 32 | 32 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 |
| 2011 | 0 | 29 | 0 | 0 | 1 | 28 | 1 | 2 | 27 | 30 | 0 | 0 | 0 | 2 | 8 | 0 |
| 2012 | 0 | 61 | 0 | 1 | 0 | 62 | 0 | 0 | 62 | 62 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60 | 2 |
| 2013 | 0 | 90 | 0 | 4 | 0 | 94 | 0 | 1 | 93 | 93 | 0 | 0 | 0 | 1 | 93 | 0 |
| 2014 | 1 | 125 | 0 | 0 | 1 | 127 | 0 | 1 | 126 | 126 | 0 | 0 | 0 | 1 | 126 | 0 |
| 2015 | 4 | 94 | 0 | 3 | 7 | 108 | 0 | 5 | 103 | 106 | 0 | 2 | 0 | 2 | 106 | 0 |
| 2016 | 1 | 100 | 1 | 2 | 14 | 118 | 0 | 2 | 116 | 116 | 0 | 2 | 0 | 1 | 117 | 0 |
| 2017 | 0 | 53 | 0 | 9 | 35 | 97 | 0 | 0 | 97 | 93 | 0 | 2 | 2 | 0 | 97 | 0 |
| 2018 | 0 | 45 | 0 | 12 | 43 | 100 | 0 | 0 | 100 | 99 | 0 | 0 | 1 | 0 | 100 | 0 |
| 2019 | 0 | 45 | 0 | 4 | 24 | 72 | 0 | 0 | 73 | 72 | 0 | 1 | 0 | 0 | 73 | 0 |
| 2020 | 0 | 7 | 0 | 2 | 5 | 14 | 0 | 0 | 14 | 14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 14 | 0 |
| 2021 | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / |
| 2022 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 |
| 2023 | 5 | 84 | 0 | 0 | 0 | 89 | 0 | 5 | 84 | 87 | 0 | 2 | 0 | 5 | 84 | 0 |

Tableau 2: Aperçu des résultats de typage depuis 1987. Les types les plus fréquents pour chaque année sont marqués en rose, ainsi que les souches pertactine-négatives (grandes deletions ou insertions dans le gène *prn*).

Relations phylogénétiques

Une analyse phylogénétique a été effectuée sur base d'une analyse SNP du core genome. Celle-ci suggère une diversité génétique très limitée. Plusieurs clusters de souches très semblables sont observés tandis que dans ces clusters, des souches de patients d'origines géographiques différentes sont présents.



Figur 3: Des « approximate maximum likelihood tree » faits avec Fasttree 2.1.11 et visualisés avec Grapetree, Contigs ont été alignés avec Snippy 4.6.0 sur référence à la souche Tohama- (GenBank accession NC002929). Gubbins 2.4.1 a été utilisé pour filtrer les régions recombinantes. La longueur des branches représente la moyenne du nombre de substitutions de nucleotides par site, tandis que les branches d'une longueur > 0,008 ont été raccourcies pour une meilleure visualisation (stippellijn).

Conclusion

Après l'incidence extrêmement basse de la période 2020-2022 due à l'épidémie de Covid et des mesures qui ont suivi, nous voyons en 2023 une reprise très abrupte du nombre de cas de coqueluche, dont le nombre dépasse largement ceux des années précédentes. C'est le cas en Belgique mais aussi dans le reste de l'Europe (ECDC, 2023).

En Belgique 1048 cas de coqueluche ont été confirmés par le NRC en 2023, environ 50 % de plus qu'en 2019, avant l'épidémie de COVID. De plus, on ne constate pas de pic estival, mais il semble que l'augmentation atteigne un plateau ou même qu'elle se poursuit vers la fin de l'année.

Le retour de la coqueluche après la levée des mesures de prophylaxie du Covid était à prévoir. La très importante augmentation à court terme et son dépassement des chiffres pré-Covid peuvent être en partie attribués à la diminution de l'immunité collective de la population ainsi qu'à une couverture vaccinale suboptimale.

L'analyse en WGS des souches isolées montre que l'augmentation du nombre de souches pertactine négatives semble être provisoirement jugulée. Il est aussi rassurant de voir qu'aucune souche résistante aux macrolides n'a été détectée.

L'analyse phylogénétique montre quelques clusters, dont cependant l'origine géographique est assez distante.

References:

Clark TA. Changing Pertussis Epidemiology: Everything Old is New Again. *The Journal of Infectious Diseases*, 2014.

Copan. Veiligheidskennisgeving eSwab® FSN-2021-001 Ref. FSCA-2021-001. 19 oktober 2021.

ECDC. Weekly Communicable Disease Threats Report, Week 51, 17-23 December 2023.