

NRC *Bordetella pertussis*: verslag van het Nationaal Referentiecentrum voor het jaar 2012.

Inleiding

In 2012 bevestigden de twee laboratoria van het Nationaal Referentie Centrum *Bordetella pertussis* een totaal van **500 gevallen van *Bordetella pertussis* infectie**.

De diagnostische technieken waren:

- Kweek + PCR: 61 gevallen
- Enkel kweek: 3 gevallen (externe isolaten)
- PCR + serologie: 9 gevallen
- Enkel PCR: 121 gevallen
- Enkel serologie: 306 gevallen

Bovendien werd in 20 gevallen een infectie met *B. parapertussis* door PCR en kweek (8 gevallen) of enkel PCR (12 gevallen) vastgesteld, die niet verder in aanmerking zullen worden genomen in dit verslag.

Oorsprong van de stammen en van de klinische monsters

Slechts drie isolaten werden door een ander peillaboratorium verzonden, de Cliniques Universitaires de l'UCL à Mont-Godinne. Alle andere respiratoire monsters werden rechtstreeks naar het UZ Brussel verstuurd voor kweek en PCR. Alle serologische testen werden op het WIV, OD-OBZ, Dienst Immunologie uitgevoerd.

Epidemiologische gegevens

De epidemiologische gegevens betreffende de gevallen gediagnosticeerd d.m.v. enerzijds PCR en/of kweek en anderzijds serologie waren nogal verschillend. Na uitsluiting van de gevallen die door beide types van technieken werden gediagnosticeerd of waarvoor geslacht en/of leeftijd ontbrak, volgend tabel werd opgesteld:

	PCR en/of kweek (2 onbekend)	Serologie
Geslacht	103 V / 86 M	154 V / 152 M
Leeftijd (mediaan, range)	5 jaar (8 dagen – 88 jaar)	42 jaar (5 maand – 81 jaar)

De leeftijdsdistributie wordt in figuur 1 weergegeven in functie van de diagnostische techniek. Het is duidelijk dat de rechtstreekse detectie d.m.v. PCR (al dan niet bevestigd door de kweek) vooral bij jonge kinderen positief is. Maar de serologische diagnose toont aan dat *B. pertussis* infectie nog zeer aanwezig is bij oudere kinderen en adolescenten, maar vooral bij volwassenen.

Figuur 2 geeft de leeftijdsdistributie voor de patiënten met diagnose op respiratoire monsters (PCR en/of kweek).

Figuur 3 geeft de evolutie sinds 1990 van het aantal d.m.v. PCR en/of kweek bevestigde gevallen.

Antibiotica gevoeligheid

De 64 voor verdere analyse beschikbare *Bordetella pertussis* isolaten werden gevoelig bevonden voor erythromycine.

Typering van de *Bordetella pertussis* isolaten

De sequentievariatie van vier virulentiegenen van *Bordetella pertussis* werd bepaald op de 64 beschikbare isolaten van het jaar 2012. In tabel 1 worden de resultaten voor het pertactine gen (*prn*) vergeleken met de resultaten van de vorige jaren. De resultaten voor de pertussis toxine subeenheden S1 en S3 (*ptxA* en *ptxC*) en voor de tracheale colonisatiefactor (*tcfA*) werden gecombineerd om multilocus sequence types (MLST) te bepalen en worden in tabel 2 getoond. De combinatie van *prn2* en MLST5 blijft overheersend.

Het *ptxP* type van de isolaten werd ook bepaald op de isolaten van 2012 (tabel 3): de meerderheid is *ptxP3*, het type dat nu overheersend aanwezig is in een aantal Europese landen.

Tabel 4 toont de serotype distributie: de meeste serotypeerbare isolaten zijn over de serotypes 2, 3 en 2,3 verdeeld.

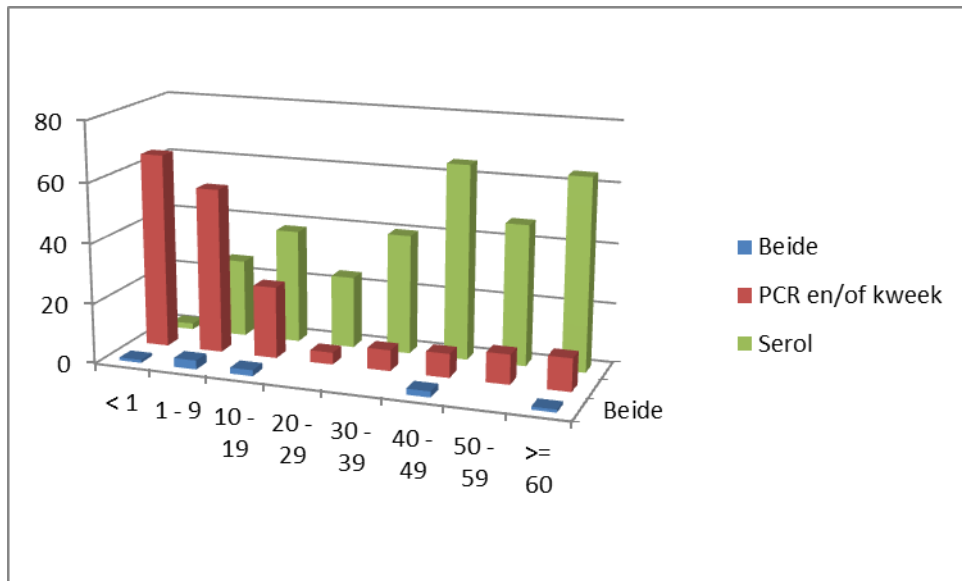
Besluit

Zoals reeds aangetoond in een publicatie van de twee laboratoria van het Nationaal Referentiecentrum (Vincent M et al., Clin Vaccine Immunol. 2011;18:588-94), zijn de technieken van PCR en kweek op de respiratoire monsters en de serologie complementair. Uit de gegevens van dit rapport is het duidelijk dat de eerste vooral zijn plaats vindt voor de diagnose in jonge kinderen terwijl de tweede aantoont dat *B. pertussis* nog altijd circuleert bij oudere kinderen en volwassenen, die een infectiebron zijn voor de eersten. Dit werd ook bevestigd door onze serosurveillance studie uitgevoerd tijdens het tweede semester van 2012, op 1500 rest-sera verzameld door zes laboratoria voor klinische scheikunde in Wallonië, Vlaanderen en het Brussels Hoofdstedelijk Gewest. Stalen werden verzameld in twee leeftijdscategoriën (20-29 en 30-39 jaar) en de anti-pertussis toxine IgG titers werd bepaald dmv. een Virion-Serion ELISA. Gebruikmakend van specifieke cut-off waarden, bleken 4% van de sera antilichaam titers te hebben die wezen op een kinkhoest infectie tijdens de afgelopen twee jaar en nog eens 4% had een titer wijzend op een acute infectie (Huygen et al, Epidemiol. Infection, 2013).

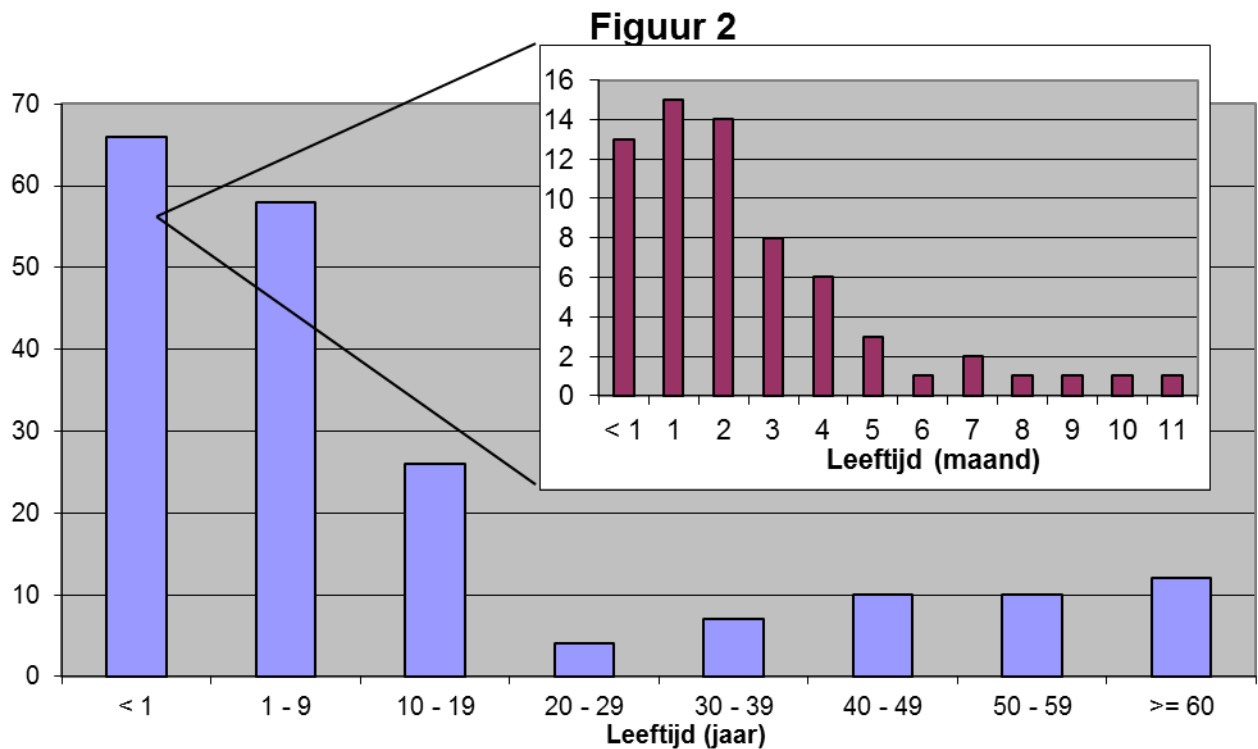
Dat kinkhoest bij volwassenen niet altijd de klassieke symptomen geeft, waardoor de diagnose soms heel laat wordt gesteld, werd ook aangetoond door het geval van een patiënt van 47 jaar oud die een persisterende hoest had, maar bij wie slechts na een hele reeks andere onderzoeken (o.m. een gastroscopie, een thorax radiografie en een thorax scan) aan kinkhoest werd gedacht, kinkhoest die dan uiteindelijk na 8 weken symptomen aan de hand van een pertussis serologie werd bevestigd (Toukouki et al, 2013)

De genetische diversiteit van *Bordetella pertussis* in België blijft sinds enkele jaren beperkt: bijna alle isolaten behoren tot MLST5 en bezitten *prn2* en *ptxP3*.

Figuur 1: Verdeling van de leeftijd van de patiënten i.f.v. de diagnostische techniek.

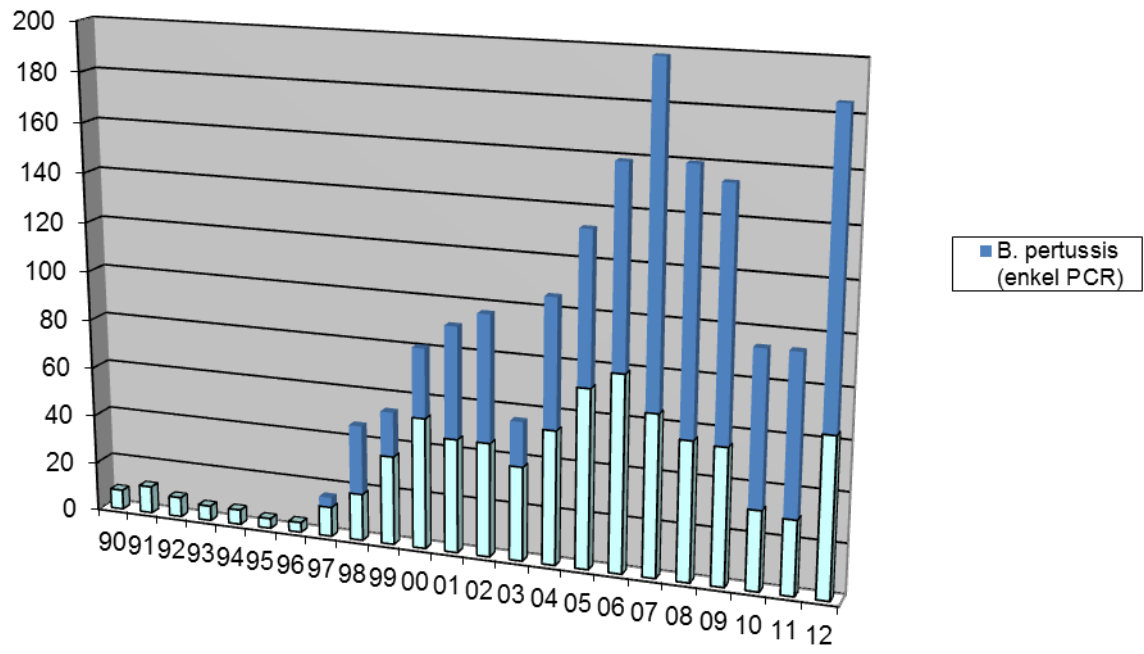


Figuur 2: Verdeling van de leeftijd van de patiënten met diagnose op respiratoire monsters



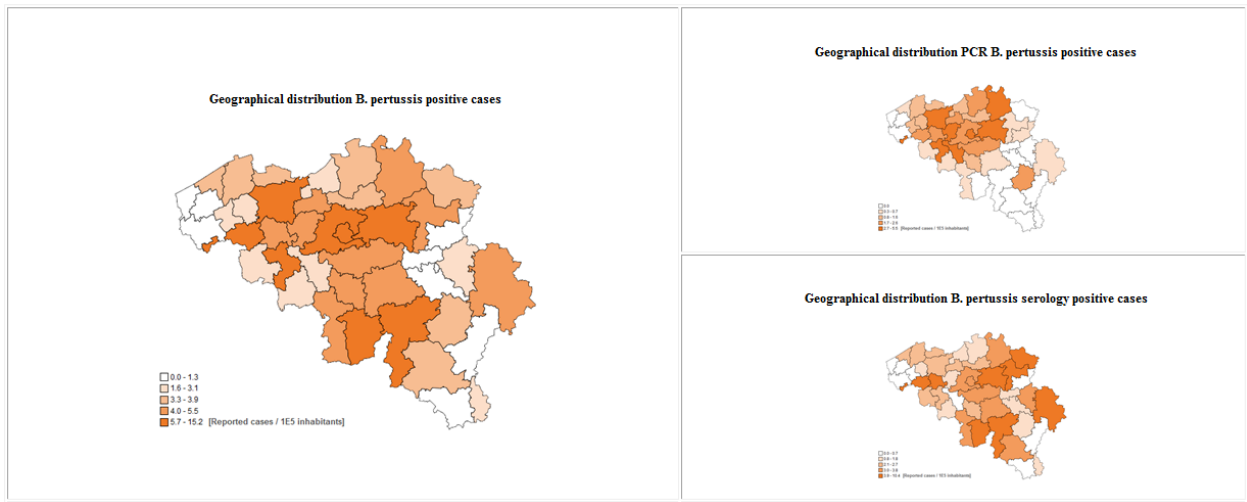
Figuur 3: Diagnose op respiratoire monsters

Figuur 3



Figuur 4: Geografische verdeling van de gevallen van acute pertussis infectie in 2012.

Bordetella pertussis, data=2012, NRC



Tabel 1: Polymorfisme van het pertactine gen

Jaar	Aantal onderzochte isolaten	Pertactine type (aantal isolaten)						Niet typeerbaar
		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

* geen amplificatie van het *prn* gen

Tabel 2: Multilocus sequence typing

Jaar	Aantal onderzochte isolaten	Multilocus sequence types (aantal isolaten)						
		MLST2	MLST3	MLST4	MLST5	MLST6	MLST7	Onbepaald 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

¹patronen die niet overeenkomen met de 11 MLST types gedefinieerd door Packard et al. (J. Med. Microbiol., 2004, 53:355-365).

²isolaten die de tracheale colonisatiefactor niet uitdrukken omdat het *tcfA* gen gedeleteerd^{2a} of gemuteerd^{2b} is (zie 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)

³isolaat met variabiliteit in het *tcfA* gen (A2 of de niet uitgedrukte A5 variant, die met MLST5 en een onbepaald *prn* type overeenkomen).

⁴geen amplificatie van de *ptx* sequenties

Tabel 3: Ptx promotor sequentie type

Jaar	Aantal onderzochte isolaten	<i>ptxP</i> sequentie		
		1	3	15
2012	64	1	61	2

Tabel 4: Serotype

Jaar	Aantal onderzochte isolaten	Serotype			
		0	2	3	2,3
2012	64	5	20	17	22