

Intérêt de la recherche combinée de *Bordetella pertussis/parapertussis* par PCR en temps réel dans le diagnostic de la coqueluche : bilan de l'année 2013 au Laboratoire Biomnis, site d'Ivry-sur-Seine

A. EBEL, S. MERLIN, C. RONSIN. Département de Biologie Moléculaire - Laboratoire Biomnis, Ivry-sur-Seine

INTRODUCTION

La coqueluche est une infection très contagieuse, en recrudescence depuis 2004, provoquant des infections gravissimes chez les nourrissons peu ou non protégés et contaminés par les adultes et les adolescents infectés. Dans ce contexte, il est indispensable de disposer de techniques de diagnostic direct sensibles, spécifiques et rapides.

OBJECTIFS

Recenser le nombre de demandes de recherche de *B. pertussis* (BP) et *B. parapertussis* (BPP) adressées au Laboratoire Biomnis site d'Ivry au cours de l'année 2013 et étudier la répartition des demandes et le pourcentage de prélèvements positifs par agent pathogène, par tranche d'âge et selon la période de l'année.

MÉTHODES

Patients : 11267 demandes de PCR coqueluche provenant pour les 2/3 de Laboratoires d'Île de France et pour 1/3 du reste de la France ont été adressées par nos laboratoires correspondants au Laboratoire Biomnis

site d'Ivry durant l'année 2013. Les prélèvements rhinopharyngés ont été déchargés et transportés dans le milieu Remel® M4RT.

MATÉRIEL

La recherche de *B. pertussis/parapertussis* s'effectue sur une plateforme automatisée :

- Identification et distribution des échantillons primaires en microplaque par le MagNA Starlet (Hamilton)
- Extraction/élution de l'ADN et préparation de la microplaque de PCR par le MagNA Pure 96 (Roche)
- Amplification et détection par l'appareil de PCR temps-réel ABI 7500 (Life technologies Applied Biosystems).

La détection est réalisée avec la trousse de PCR en temps réel *Bordetella pertussis/parapertussis* Bio-Evolution :

- Détection simultanée par PCR en temps réel de *B. pertussis*, *B. parapertussis* et d'un contrôle interne d'extraction et de cellularité : la β actine.
- Sondes spécifiques de *B. pertussis*, *B. parapertussis* et de la β actine respectivement marquées par les fluorochromes suivants : FAM, HEX et ATTO647N.
- Résultats rendus qualitativement en fonction de la valeur d'un cycle seuil (C_T) selon les recommandations du fournisseur (C_T seuil : 38)



Starlet Hamilton



MagNA Pure 96 System



Applied 7500



Transfert informatisé des résultats

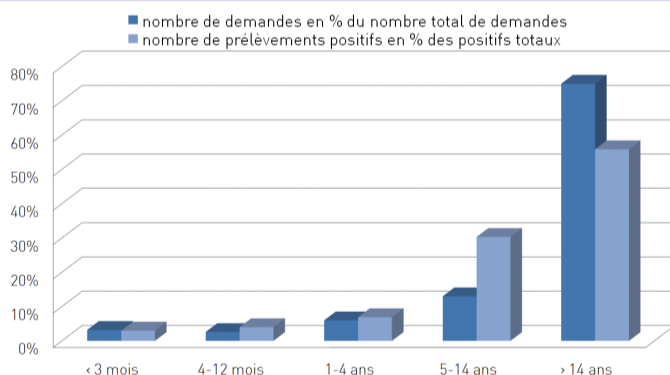
RÉSULTATS

Tableau 1 : Pourcentage de prélèvements positifs pour *B. pertussis* et *B. parapertussis* sur l'année 2013

Agent pathogène	Nombre de demandes	Nombre de positifs	Taux de positifs en %
<i>Bordetella pertussis</i>	11267	1315	11.7
<i>Bordetella parapertussis</i>	11267	92	0.8

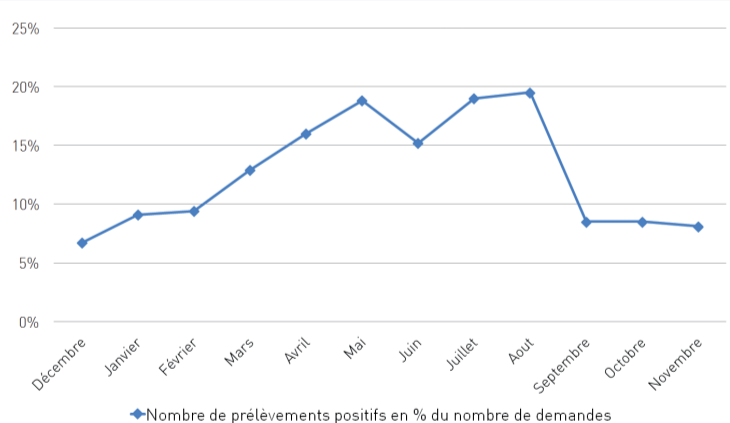
- 11.7% des prélèvements sont positifs pour BP et 0.8% pour BPP.

Figure 1 : répartition du nombre de demandes et du % de prélèvements positifs pour BP et BPP par rapport aux positifs totaux par tranche d'âge



- 25% des demandes concernent les enfants de moins de 14 ans, 75% les adultes de plus de 14 ans.
- 44.3% des prélèvements positifs pour BP et BPP concernent les enfants dans la tranche d'âge < 14 ans.

Figure 2 : Pourcentage de prélèvements positifs en BP et BPP par rapport au nombre de demandes en fonction des mois de l'année



- Nos résultats montrent une saisonnalité de l'infection avec une augmentation du nombre de résultats positifs au printemps et en été.

DISCUSSION

- Nous retrouvons un taux de positivité important par PCR (11.7% pour BP et 0.8% pour BPP) sur l'ensemble des prélèvements reçus.
- Une recrudescence du nombre de cas a déjà été notifiée dès 2004 (1).
- Le pourcentage de positivité est particulièrement important chez les enfants de moins de 14 ans (44.3%). A. Guigon reportait des taux de 18.5% entre 2011 et 2013 dans cette tranche d'âge au CHU d'Orléans (2). Ce nombre important de prélèvement positifs dans la tranche d'âge 5-14 ans peut s'expliquer par une perte progressive de l'immunité vaccinale justifiant le rappel vaccinal à 11-13 ans et les recommandations

récentes de vaccination de l'adulte.

- Ces résultats confirment la nécessité de disposer de techniques fiables, performantes, multiplex et automatisées pour le diagnostic et la prise en charge rapides des patients infectés. Notre chaîne automatisée associée à la trousse de PCR multiplex en temps réel BioEvolution *B. pertussis/parapertussis* répond bien à cette attente (3).
- Même si la notion de saisonnalité de la coqueluche est discutée, nous retrouvons sur l'année 2013 une augmentation du nombre de prélèvements positifs au printemps et en été.

CONCLUSION

Le taux élevé de résultats positifs notamment chez les enfants confirme l'intérêt du diagnostic précoce de la coqueluche à l'aide de techniques de PCR multiplex performantes, permettant une prise en charge rapide des

patients atteints, en particulier les nourrissons, principales cibles de cette infection transmise par les adultes insuffisamment protégés.

RÉFÉRENCES

1. BEH, n° 17/2006, 25 Avril, p113-115
2. A. Guigon *et al* : Coqueluche : errances diagnostiques et application des recommandations dans la coqueluche. Communication à la 33^{ème} RICA
3. Evaluation de la trousse de PCR en temps réel bio-évolution pour la détection simultanée de *B. pertussis* et *B. parapertussis* sur plateforme totalement automatisée. A. Ebel, S. Merlin, C. Ronsin. Laboratoire Biomnis, Ivry-sur-Seine