

Diagnosticeren van kinkhoest: zijn er mogelijkheden voor verbetering?

Nicoline van der Maas, Laura ter Steege, Nienke Roescher, Daan Notermans, Guy Berbers, Frans Reubsaet, Hester de Melker

Samenvatting

Achtergrond: Kinkhoest komt veel voor en kan vooral bij zuigelingen zeer ernstig verlopen. Juiste diagnostiek kan helpen de diagnose tijdig te stellen. Dit artikel beschrijft en bediscussieert de diagnostiek die wordt uitgevoerd door de medische microbiologische laboratoria (MML's).

Methode: We hebben MML's gevraagd mee te werken aan een vragenlijstonderzoek naar het aantal aanvragen voor kinkhoest en naar specificaties van de gebruikte methoden voor kweek, PCR en serologie. De uitkomsten werden getoetst aan internationale adviezen over de testmethoden en analyses van verrichte diagnostiek bij kinkhoestmeldingen.

Resultaten: Negentien van de 49 aangeschreven microbiologen (39 procent) hebben de vragenlijst ingevuld. In 2015 werden bij deze 19 MML's 11.457 aanvragen voor kinkhoestdiagnostiek gedaan. In 85 procent van de aanvragen ging het om serologie, gevolgd door PCR (14 procent) en kweek (1 procent). Afname, transport en gebruikte media voor kweek en PCR werden in 53 tot 100 procent van de gevallen uitgevoerd zoals geadviseerd. De richtlijnen rondom uitvoering, controlestappen en interpretatie van de diagnostiekslagen werden in 19 tot 100 procent van de gevallen opgevolgd.

Conclusie: Kinkhoestdiagnostiek in Nederlands kan verbeterd worden. Goede voorlichting aan aanvragende artsen over het soort diagnostiek in relatie tot ziekte duur, leeftijd en vaccinatiestatus en specifieke aanbevelingen voor afname en transport samen met verdere perfectionering van de uitvoering en controles van de diagnostiek kunnen hier mogelijk een bijdrage aan leveren.

Abstract

Background: Pertussis, a respiratory infection with young infants at highest risk for a severe

course, has resurged despite high vaccination coverage. Appropriate diagnostics can help to confirm the disease in an early stage. This article describes current pertussis diagnostics, performed by medical microbiological laboratories (MML) in the Netherlands.

Method: A questionnaire was sent to all MML and upon return analysed to determine the number and type of pertussis tests and specifics of the test methods for culture, PCR and serology in the Netherlands. Results were checked for adherence to international guidelines on diagnostics and compared with data on diagnostics from pertussis notifications.

Results: Nineteen of 49 microbiologists (39 percent) returned the questionnaire. These laboratories received 11,457 requests for pertussis diagnostics (2015). Serology was performed in 85 percent, followed by PCR (14 percent) and culture (1 percent). Sampling methods, transportation requirements, as well as test procedures, such as the use of controls, were in 19 till 100 percent performed in adherence to guidelines.

Centrum voor Infectieziektebestrijding RIVM, Epidemiologie en Surveillance, dr. N.A.T. van der Maas, arts-epidemioloog, dr. H.E. de Melker, epidemioloog en hoofd afdeling Epidemiologie en surveillance van het Rijksvaccinatie programma; Infectieziekteonderzoek, Diagnostiek en *laboratorium* Surveillance, L.P. ter Steege, stagiaire, dr. D.W. Notermans, arts-microbioloog, dr. F.A.G. Reubsaet, microbioloog; Immunologie van Infectieziekten en Vaccins, dr. G.A.M. Berbers, biochemicus met expertise op vaccins. Vrije Universiteit, Amsterdam, Masteropleiding Biomedical Sciences, L.P. ter Steege, student biomedische wetenschappen. St Antonius ziekenhuis, Nieuwegein, afdeling Medische microbiologie en Immunologie, dr. N. Roescher, arts-microbioloog. Correspondentieadres: dr. N.A.T. van der Maas (nicoline.van.der.maas@rivm.nl).

Conclusion: Pertussis diagnostics in the Netherlands can be improved. Supplying requesting physicians with appropriate information and recommendations on type of diagnostics in relation to age, vaccination status and duration of illness, sampling and transport together with refining test performances and using control steps may help.

Introductie

Kinkhoest wordt meestal veroorzaakt door *Bordetella pertussis* (Bp) en in veel mindere mate door andere *Bordetellae* als *B. parapertussis* (Bpp), *B. bronchiseptica* (Bb) of *B. holmesii* (Bh). De infectie kan vooral voor jonge, nog niet (volledig) gevaccineerde zuigelingen zeer ernstig verlopen en kan soms zelfs leiden tot sterfte.¹

Kinkhoest is in Nederland meldingsplichtig sinds 1975; laboratoriumbevestiging is een van de meldingscriteria omdat het klinische beeld alleen niet pathognomonisch is voor kinkhoest.² De meldingsplicht dient om contacten te beschermen door middel van maatregelen, zoals antibiotische profylaxe of vaccinatie van contacten. Dit is vooral van belang als dit risicogroepen zoals jonge zuigelingen of zwangeren betreft.³ Om deze maatregelen te kunnen nemen, is snelle en juiste diagnostiek van belang. De meldingsplicht is echter ook belangrijk voor de kinkhoestsurveillance. Alle aanpassingen in het vaccinatiebeleid van de afgelopen decennia zijn mede gebaseerd op deze surveillance. Hierbij is betrouwbare diagnostiek ook van groot belang.

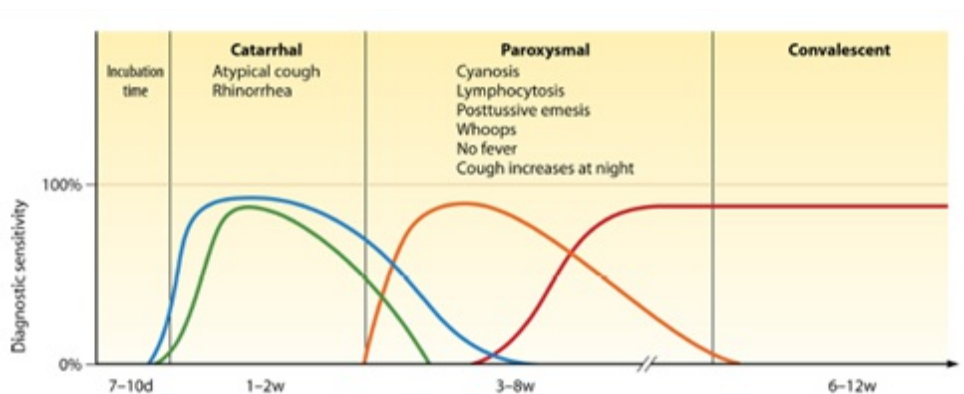
Vaccinatie tegen kinkhoest werd in 1957 onderdeel van het Rijksvaccinatie programma (RVP) door middel van een

difterie-tetanus-kinkhoest-poliomyelitis (DKTP)-combinatievaccin, dat de hele geïnactiveerde kinkhoestbacterie bevatte ('whole cell vaccin', WCV). Vanwege een gunstiger veiligheidsprofiel is het WCV in 2005 vervangen door een acellulair kinkhoestcombinatievaccin (ACV) met één tot vijf gezuiverde antigenen, waaronder pertussis toxine (PT), filamenteus hemagglutinine (FHA) en pertactine (Prn).

Ondanks een langdurige hoge vaccinatiegraad komt kinkhoest sinds 1996 weer vaker voor, met elke twee tot drie jaar een epidemische verheffing.^{4,5} Er zijn diverse aanpassingen in het RVP doorgevoerd om deze toename te stoppen.⁶ Dit heeft geleid tot een afname van kinkhoest bij kinderen van zes maanden tot ongeveer acht jaar, maar niet bij jonge, nog niet (volledig) gevaccineerde zuigelingen. Waarschijnlijk worden zij geïnfecteerd door de groeiende groep adolescenten en volwassenen met (atypische) kinkhoest.^{7,8} Om de jonge zuigelingen beter te beschermen, heeft de minister van Volksgezondheid, Welzijn en Sport medio 2018 het advies van de Gezondheidsraad overgenomen om alle zwangeren in hun derde trimester een kinkhoestvaccinatie aan te bieden.^{9,10}

Kinkhoest kan worden aangetoond met behulp van kweek, polymerasekettingreactie (PCR) of serologie (figuur 1 en box 1).¹¹ *Bordetellae* groeien vaak pas na drie dagen en meestal niet op de reguliere kweekmedia. De aanwezigheid kan dus gemakkelijk gemist worden indien deze kweek niet specifiek wordt aangevraagd. Kweek en PCR zijn vanaf twee tot vier weken na de start

Figuur 1. Relatieve sensitiviteit van kweek (groen), PCR (blauw), serologie (rood) en klinische verschijnselen (oranje) tijdens verschillende stadia van kinkhoest. De weergegeven sensitiviteiten zijn ter verduidelijking geïdealiseerd. Omdat PCR ook DNA van dode bacteriën detecteert, is de PCR één tot twee weken langer positief dan een kweek.¹³



Soort diagnostiek in relatie tot ziekteduur, leeftijd en vaccinatiestatus (zie ook *figuur 1*):^{3,13}

- Bij kinderen jonger dan 1 jaar en ongevaccineerde kinderen jonger dan 4 jaar:
 - eerst PCR, gevolgd door serologie indien PCR negatief is.
- Bij overige groepen:
 - binnen twee tot vier weken na start hoesten: kweek en/of PCR;
 - bij hoesten meer dan drie weken: serologie.
- Bij twijfel: eerst PCR, gevolgd door serologie indien PCR negatief is.

Kweek en PCR

- Materiaal uit nasofarynx.
- Afnamewat van dacron, nylon, rayon, calciumalginaat (alleen kweek), katoen (alleen PCR).
- Afnamewat vroeg in het ziektebeloop.

Kweek

- Transportmedium: Regan-Lowe, Bordet-Gengou, Amies.
- Kweekmedium: Regan-Lowe/ Bordet-Gengou/ Stainer-Scholte; alle met en zonder cefalexine.
- Incubatietijd 12 tot 14 dagen bij 37° C in een vochtige atmosfeer.

PCR

- Targets *Bordetella pertussis*: IS481, IS481+IS1002, IS481+IS1002+IS1001, IS481+PtxP.
- Targets *Bordetella parapertussis*: IS1001, IS1001+IS1002, IS481+IS1002+IS1001, IS1001+PtxP.
- Controles op positieve uitslag, remming en contaminatie.

Serologie

- Bepaling met behulp van ELISA of multiplex.
- Uitsluitend gebruikmaken van pertussis toxine (PT).
- Bepalen van IgG-antistofconcentraties.
- Gebruikmaken van WHO-referentieserum IS 06/140 of een afgeleide daarvan.

Eénpuntserologie

- Afkapwaarde positieve uitslag ≥ 100 tot 125 IU/ml.

Tweepuntserologie

- Tweede monster afnemen twee weken na eerste monster.
- Afkapwaarde positieve uitslag: drie- of meervoudige stijging van anti-PT-IgG tot een waarde hoger dan 20 IU/ml.
- Interpretatie van antistofconcentratie hangt af van leeftijd en vaccinatiestatus van de patiënt, van de ziekteduur en tijd tussen monsters.

van het hoesten vaak niet meer positief. Zo rapporteerden Van der Zee et al. 7 en 21 procent sensitiviteit voor respectievelijk kweek en PCR bij patiënten met serologisch bevestigde kinkhoest.¹² Als het hoesten langer dan drie weken heeft geduurd, kan waarschijnlijk beter serologie worden ingezet, hoewel dit afhankelijk is van de leeftijd en vaccinatiestatus van de patiënt (*figuur 1* en *box 1*).^{3,13} Bij twijfel welke diagnostiek moet worden ingezet, is het verstandig eerst een PCR in te zetten; indien deze negatief is kan serologie de uitslag definitief maken.

Het is op dit moment niet bekend hoeveel kinkhoest-aanvragen er gedaan worden in Nederland, welk percentage er positief is en wat de kwaliteit van de gebruikte diagnostische methodes is. Daarom stuurden wij een vragenlijst naar de Nederlandse medisch-microbiologische laboratoria (MML's). We toetsten de antwoorden aan de adviezen over kinkhoestdiagnostiek die nationale en internationale experts geven.¹³⁻¹⁶

Methoden

Setting en vragenlijst

In 2016 is een vragenlijst over kinkhoestdiagnostiek verstuurd naar MML's. Na twee en vijf weken werd een herinnering gestuurd. Hierin is gevraagd naar de aanvragen bij verdenking op kinkhoest (totaal aantal + aantal positieven) voor kweek, PCR en serologie in 2015. Verder is voor de drie soorten diagnostiek nadere informatie gevraagd over kenmerken van bemonstering, uitvoering, verwerking en interpretatie.

Analyse

De gebruikte diagnostische methoden zijn vergeleken met adviezen van (inter)nationale experts (*box 1*).¹³⁻¹⁶

Resultaten

De resultaten zijn ook samen gevat in *tabel 1* (geaggregeerde data, zie einde van het artikel).

Respons en aantallen diagnostiek

Er zijn 49 vragenlijsten verstuurd, waarvan er 19 ingevuld zijn geretourneerd (respons 39 procent). Hieruit blijkt dat negen MML's de kweek uitvoeren in de reguliere diagnostiek. Voor PCR en serologie was dit aantal respectievelijk 14 en 16 (*tabel 1*).

In 2015 hebben de 19 MML's in totaal 11.457 aanvragen voor kinkhoestdiagnostiek ontvangen. Hiervan was 85 procent een aanvraag voor serologie, 14 procent voor PCR en 1 procent voor kweek.

Kweek

Van de negen MML's die kweek uitvoerden, ontving 70 procent monsters die, zoals geadviseerd, afgenomen waren vanuit de nasofarynx. Bovendien was 80 procent van de monsters afgenomen met het juiste afnamemateriaal (dacron, nylon, rayon of calciumalgi-naat).

Bijna 80 procent van de MML's kreeg de kweken binnen in een correct transportmedium (Regan-Lowe, Bordet-Gengou of Amies). Als kweekmedia werden charcoal agar, Regan-Lowe of Bordet-Gengou gebruikt, waarbij ruim de helft (56 procent) van de MML's zowel media met als zonder cefalexine gebruikte. Ruim 40 procent van de MML's hanteerde een incubatietijd van 12 tot 14 dagen.

PCR

Bij de 14 MML's die PCR als kinkhoestdiagnostiek uitvoerden, waren de anatomische herkomst en afnamemateriaal vergelijkbaar met de kweek; 53 procent ontving monsters uit de nasofarynx, die bij alle MML's ook met geadviseerd afnamemateriaal waren afgenomen. Zesentachtig procent van de MML's gebruikte een combinatie van targets die geadviseerd werd voor het aantonen van *B pertussis* (IS481, IS481+IS1002, IS481+IS1002+IS1001, IS481+PtXP), terwijl 71 procent van de MML's een goede combinatie gebruikte om *B parapertussis* (IS1001, IS1001+IS1002, IS481+IS1002+IS1001, IS1001+PtXP) aan te tonen.

Drieënnegentig procent van de MML's heeft de vragen over het gebruik van controlestappen ingevuld. Alle MML's controleerden op contaminatie en op remming, maar slechts 31 procent

gebruikte een positieve controle conform de aanbeveling.

Serologie

Alle 16 MML's die serologie uitvoerden, gebruikten hiervoor een ELISA, één MML combineerde dit met een immunoblot. Negentien procent van de MML's gebruikte een referentieserum. Bij alle testen werd in overeenstemming met het advies de IgG-concentratie gemeten, bij twee testen ook de IgA-concentratie. Vierennegentig procent van alle MML's volgde het advies op om een test met uitsluitend PT te gebruiken.

Ruim 80 procent van de MML's gebruikte een test die werd afgelezen in IU/ml. Bij 85 procent van deze MML's was de afkapwaarde voor seropositiviteit van IgG in overeenstemming met het advies van 100 IU/ml of hoger. Ruim 60 procent van de MML's testte de twee serummonsters van een gepaarde afname tegelijkertijd, waarbij bijna 70 procent van de MML's, zoals geadviseerd, als voorwaarde stelde dat er 14 dagen tussen de afname van de twee monsters moest zitten. Voor de overige MML's was dit korter. Zesenvijftig procent van de MML's gebruikte ook de minimaal geadviseerde drievoudige concentratiestijging tot minimaal 20 IU/ml in het tweede serum als bewijs voor een kinkhoestinfectie. Ruim 60 procent van de MML's interpreteerde het antistofniveau op basis van leeftijd ($n = 5$), vaccinatiestatus ($n = 7$), ziekte duur ($n = 6$) en/of tijd tussen de serummonsters ($n = 7$).

Discussie

Dit onderzoek geeft inzicht in de kinkhoestdiagnostiek in Nederland. De resultaten maken duidelijk dat er bij kinkhoestdiagnostiek in Nederland veel goed gaat, maar dat er ruimte is voor verdere verbetering.

Zo werd soms bij de kweek afnamemateriaal gebruikt dat toxisch kan zijn voor de bacterie (katoen) en werd de kweek opgestuurd zonder transportmedium, waardoor de overleving van de bacterie gecompromitteerd kan worden.¹³ Ook werden niet altijd (44 procent) kweekmedia met en zonder cefalexine gebruikt om eventuele groei van commensale faryngeale flora te remmen en zo kans op detectie van alle *Bordetella*-species te vergroten. Ten slotte was de incubatietijd bij 56 procent van de onderzoeken korter dan de aanbevolen 12 tot 14 dagen. Deze lange incubatietijd wordt geadviseerd om *Bp* en *Bh* beter te

kunnen detecteren.

Bij de PCR kan het gebruik van de juiste set targets (ten minste IS481 en IS1001) ervoor zorgen dat er onderscheid tussen *Bp* en *Bpp* gemaakt kan worden.¹³ Voor de behandeling is het onderscheid tussen beide species niet relevant.¹⁷ Kinkhoestvaccinatie voorkomt echter alleen ziekte door *Bp*. Voor surveillance is het onderscheid tussen *Bp*- en *Bpp*-infectie dus wel belangrijk.

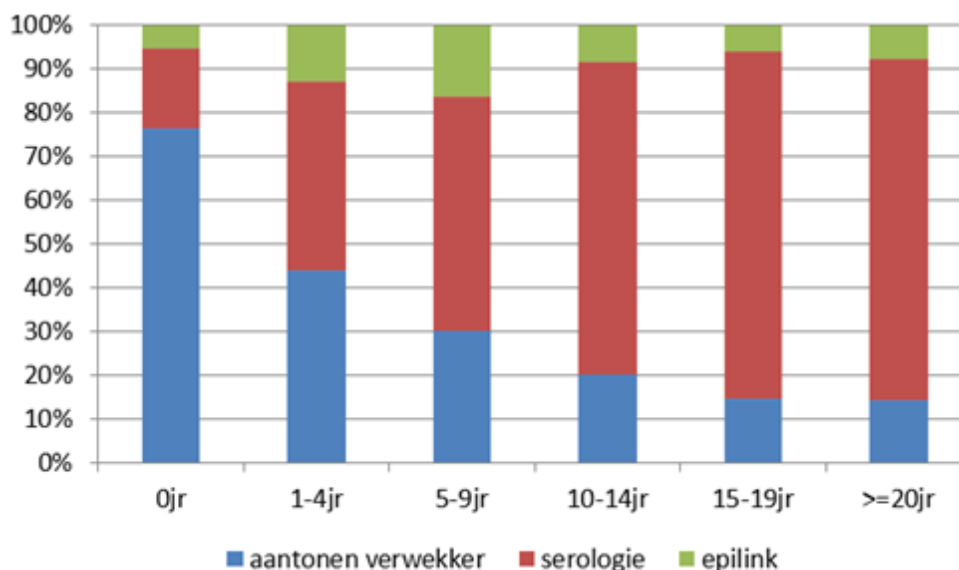
Bij serologie werd in een enkel geval niet uitsluitend PT gebruikt, waardoor er kans is op kruisreactiviteit met andere pathogenen.^{13,14} In 81 procent van de onderzoeken werd geen (afgeleide van een) referentieserum meegenomen. De test moet een groot bereik aan antistofconcentraties kunnen omvatten, om ook de uitslagen van tweepuntserologie betrouwbaar te kunnen interpreteren. Vooral de minimale waarde voor tweepuntserologie en de afkapwaarde voor een positieve tweepuntserologie werden verschillend toegepast en voldeden niet altijd aan het advies van een minstens drievoudige stijging van anti-PT-IgG tot een waarde hoger dan 20 IU/ml. Literatuur toont aan dat bij deze combinatie de specificiteit vrijwel 100 procent is.¹⁸ De afkapwaarde voor een positieve eenpuntserologie (boven 100 tot 125 IU/ml) werd wel door 85 procent van de MML's gehanteerd. Internationaal is er geen consensus over een afkapwaarde maar varieert deze tussen 50 en 125 IU/ml.¹⁴ Het RIVM gebruikt 100 IU/ml.^{19,20}

Verder is de interpretatie van de serologie afhankelijk van de leeftijd en de vaccinatiestatus van de patiënt; dit werd slechts door 63 procent van de MML's toegepast. Omdat acellulaire vaccins een hoge dosis PT bevatten en hiermee een hoge immuunrespons induceren, kan een serologische test niet betrouwbaar worden geïnterpreteerd indien de laatste vaccinatie met acellulair kinkhoest korter dan één jaar geleden is. Volgens het huidige RVP betreft dit in ieder geval nul-, één- en vierjarige kinderen. Recent onderzoek toont aan dat deze periode voor volwassenen mogelijk langer is.²¹ Het weergeven van de uitslag in IU/ml in plaats van Virotecheenheden kan de interpretatie vergemakkelijken.

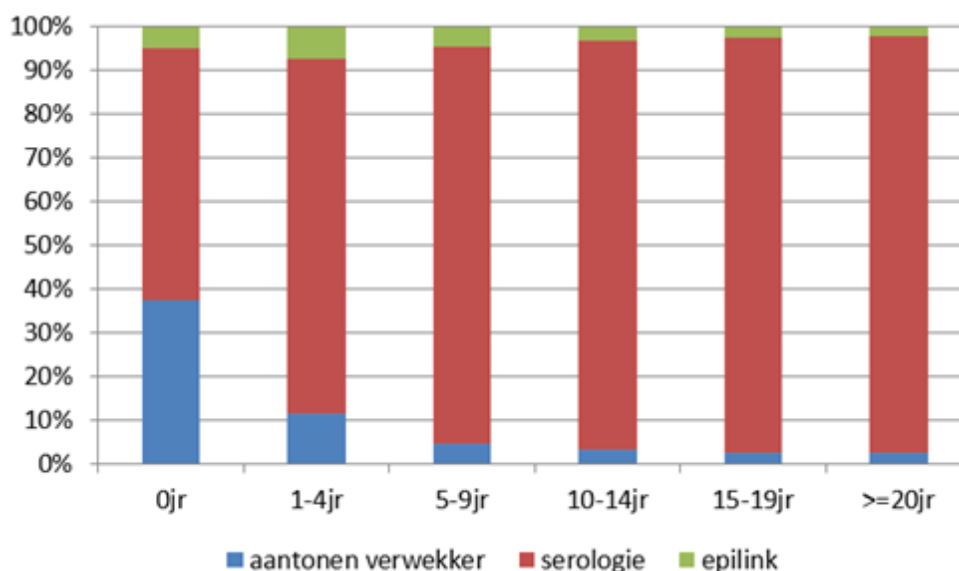
De betrouwbaarheid van de diagnostische uitslag is belangrijk.^{22,23} De Werkgroep Moleculaire Diagnostiek van Infectieziekten (WDMI) beveelt voor PCR's een positieve, negatieve en een interne controle op remming aan. De positieve controle wordt slechts door een derde van de MML's uitgevoerd. Daarnaast kan de sensitiviteit van de uitslag verminderen bij veranderingen van de bacterie (zoals het verlies van genetisch materiaal)²⁴ en het gebruik van multiplex PCR's, waarbij meerdere pathogenen tegelijkertijd worden getest.²⁵ Voor serologie geldt dat testen die gebruik maken van micro-agglutinatie niet kwantitatief zijn en dus een lagere sensitiviteit en/of specificiteit hebben.²⁶⁻²⁹

Voor goede kinkhoestdiagnostiek is het belangrijk

Figuur 2A. Percentages van toegepaste diagnostische methoden in relatie tot de leeftijd bij meldingen met een eerste ziektedag tot drie weken voor melding.



Figuur 2B. Percentages van toegepaste diagnostische methoden in relatie tot de leeftijd bij meldingen met een eerste ziektedag tot drie weken voor melding.



Aantonen verwekker: kweek en/of PCR. Epilink: klinische sterke verdenking op kinkhoest, gelinkt aan een door het laboratorium bevestigde kinkhoest, maar de patiënt zelf niet getest op kinkhoest. Bron: Registratie van meldingsplichtige infectieziekten (Osiris).

dat aanvragende artsen en MML's voldoende weten over de specifieke eisen die gesteld worden aan kweek, PCR en serologie van kinkhoest. Voorlichting van microbiologen aan de aanvragende artsen over de soort diagnostiek in relatie tot de ziekteduur, over afnametechnieken en -materialen en over transport van het materiaal, kan helpen om die aspecten verder te verbeteren. De samenvatting van de (inter)nationaal geaccepteerde adviezen in *box 1* biedt hiervoor een handreiking.

Uit dit vragenlijstonderzoek blijkt dat serologische diagnostiek het meest wordt aangevraagd. Dit komt overeen met de gerapporteerde diagnostiek van kinkhoestmeldingen (*figuur 2A en 2B*). Voor meldingen met een ziekteduur langer dan drie weken is dit volgens de advisering (*figuur 2B*). Mogelijk is het, met name bij oudere kinderen en volwassenen, ook de meest gekozen optie bij een ziekteduur korter dan drie weken (*figuur 2A*). Bij deze laatste groep is volgens het advies de PCR de beste vorm van diagnostiek. *Figuur 2B* laat ook zien dat het aantonen van de verwekker, in de meeste gevallen met PCR, nog vaak (45 procent) positief is bij een ziekteduur langer dan drie weken, vooral bij kinderen tot 4 jaar. Dit heeft waarschijnlijk te maken met het feit dat de hoeveelheid bacterieel DNA bij kinderen hoger is dan bij volwassenen, zodat de kans op detectie

hoger is.³⁰ Een PCR kan dus ook later in het ziektebeeld worden ingezet, zoals ook wordt geadviseerd door Van der Zee et al.²³ Wel neemt de sensitiviteit van PCR af bij toename van de leeftijd en de tijd sinds de eerste ziektedag.¹² Meer inzicht in de juiste diagnostiek in relatie tot de ziekteduur, bij voorbeeld door bijscholing of een 'richtinggevend' laboratoriumformulier kan helpen om de juiste diagnostiek aan te vragen.

Het grote aandeel van serologie in de kinkhoestdiagnostiek bij oudere kinderen en volwassenen (*figuur 2A en 2B*) heeft waarschijnlijk te maken met het feit dat kinkhoestdiagnostiek vaak relatief laat wordt ingezet. De eerste klachten en verschijnselen zijn weinig specifiek, waardoor mensen mogelijk later naar de arts gaan en/of huisartsen vaker wachten met het inzetten van diagnostiek gericht op kinkhoest.

De trend om diagnostiek door middel van kweek te vervangen door PCR staat een goede pathogeensurveillance in de weg. Deze surveillance is nodig om te controleren of de antigenen in het vaccin overeenkomen met de actuele bacteriepopulatie.³¹ Het centrum Infectieziekteonderzoek, Diagnostiek en *laboratorium* Surveillance van het RIVM voert deze surveillance uit en levert

deelnemende MML's kosteloos de materialen om de afgenomen swabs op kweek te zetten en in te sturen. Voor meer informatie kunt u mailen met thijs.bosch@rivm.nl.

Vanwege de complexiteit van de diagnostiek is het belangrijk om de kwaliteit daarvan periodiek te controleren met behulp van testpanels. Recent Amerikaans onderzoek toonde aan dat in 83 procent van de gevallen de onderzoeksuitkomsten van het Center for Disease Control and Prevention (CDC) en een aantal commerciële laboratoria gelijk waren, wat betreft het aantonen van *Bordetella*-stammen met behulp van PCR.³² Serologische rondzendingen binnen het EUPertstrainnetwerk tonen aan dat de serologie van nationale referentielaboratoria in Europa van goede kwaliteit is.³³ In Nederland verzorgt de Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoria (SKML) periodieke rondzendingen voor kinkhoestserologie. PCR-rondzending is beschikbaar via QCMD.

Het gebruik van testen die niet voldoen aan de aanbevelingen of niet worden afgenomen in de juiste fase van de ziekte, kunnen leiden tot fout-positieve of fout-negatieve uitslagen en dus mogelijk tot een verkeerde schatting van de kinkhoestincidentie.

Conclusie

Laboratoriumdiagnostiek voor kinkhoest in Nederland kan verder worden verbeterd. De leeftijd van de patiënt, de vaccinatiehistorie en de fase van het ziekteproces moeten bepalend zijn voor het aanvragen van de juiste diagnostiek. Goede voorlichting over het soort diagnostiek en specifieke aanbevelingen voor afname en transport aan de aanvragende arts kunnen hieraan bijdragen. Daarnaast kan de kinkhoestdiagnostiek profiteren van verbeteringen in de technische uitvoering.^{13,14} Het beschrijven van deze specificaties in een landelijke richtlijn, bijvoorbeeld opgezet door de Nederlandse Vereniging voor Medisch Microbiologie, kan hierbij helpen.

Deze verbeteringen bevorderen het tijdig stellen van een juiste diagnose, de kwaliteit van de kinkhoestsurveillance, en vergroten de kans om adequate bestrijdingsmaatregelen te nemen.

De geanonimiseerde gegevens van de individuele laboratoria zijn bij de auteur opvraagbaar.

Dit onderzoek is volledig gefinancierd door het ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport. Geen van de auteurs heeft conflicterende belangen die van invloed kunnen zijn op dit onderzoek.

Referenties

1. Heininger U. Pertussis: what the pediatric infectious disease specialist should know. *Pediatr Infect Dis J.* 2012;31:78-9.
2. van Vliet H. Geschiedenis van de meldingsplicht. *Tijdschr Infect.* 2009;51:60.
3. LCI. LCI richtlijn kinkhoest, 2005. 13 februari 2018; Available from: <https://lci.rivm.nl/richtlijnen/kinkhoest>.
4. Van Lier A, Geraedts JLE, Oomen P, et al. Vaccinatiegraad en jaarverslag Rijksvaccinatieprogramma Nederland 2016. 2017, National Institute for Public Health and the Environment: Bilthoven.
5. de Melker HE, Schellekens JFP, Neppelenbroek SE, Mooi FR, Rumke HC, Conyn-van Spaendonck MAE. Reemergence of pertussis in the highly vaccinated population of the Netherlands: observations on surveillance data. *Emerg Infect Dis.* 2000;348-57.
6. van der Maas NAT, Mooi FR, de Greeff SC, Berbers GAM, Conyn-Spaendonck MAE, de Melker HE. Pertussis in the Netherlands, is the current vaccination strategy sufficient to reduce disease burden in young infants? *Vaccine.* 2013;31:4541-7.
7. de Greeff SC, de Melker HE, van Gageldonk PG, et al. Seroprevalence of Pertussis in the Netherlands: Evidence for Increased Circulation of *Bordetella pertussis*. *PLoS One.* 2010;5:e14183.
8. de Greeff SC, Mooi FR, Westerhof A, et al. Pertussis disease burden in the household: how to protect young infants. *Clin Infect Dis.* 2010;50:1339-45.
9. Gezondheidsraad, Vaccinatie tegen kinkhoest: doel en strategie. 2015, Gezondheidsraad: Den Haag.
10. Ministerie van Volksgezondheid W e S, Maternale kinkhoestvaccinatie. 2018: Den Haag.
11. CDC. <http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/surv-manual/chpt10-pertussis.html> Manual for the surveillance of Vaccine-Preventable Diseases 2014.
12. van der Zee A, Agterberg C, Peeters M, Mooi F, Schellekens J. A clinical validation of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* polymerase chain reaction: comparison with culture and serology using samples from patients with suspected whooping cough from a highly immunized population. *J Infect Dis.* 1996;174:89-96.
13. van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28:1005-26.
14. Guiso N, Berbers GAM, Fry NK, He Q, Riffelmann M, Wirsing von König CH. What to do and what not to do in serological diagnosis of pertussis: recommendations from EU reference laboratories. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2011;30:307-12.
15. Cloud JL, Hymas W, Carroll KC. Impact of nasopharyngeal swab types on detection of *Bordetella pertussis* by PCR and culture. *J Clin Microbiol.* 2002;40:3838-40.
16. Arbefeville S, Ferrieri P. Comparison of rates of positivity for *Bordetella pertussis* by real-time PCR between specimens collected with rayon swabs on aluminum wire shaft in Amies gel with charcoal and specimens collected with flocced swabs in universal viral transport medium during an epidemic. *J Clin Microbiol.* 2014; 52:2656-8.
17. Hoppe JE. Update on respiratory infection caused by *Bordetella parapertussis*. *Pediatr Infect Dis J.* 1999;18:375-81.

18. de Greeff SC, Teunis P, de Melker HE, et al. Two-component cluster analysis of a large serodiagnostic database for specificity of increases of IgG antibodies against pertussis toxin in paired serum samples and of absolute values in single serum samples. *Clin Vaccine Immunol.* 2012;19:1452-6.
19. de Melker HE, Versteegh FG, Conyn-Van Spaendonck MA, et al. Specificity and sensitivity of high levels of immunoglobulin G antibodies against pertussis toxin in a single serum sample for diagnosis of infection with *Bordetella pertussis*. *J Clin Microbiol.* 2000;38:800-6.
20. van der Lee S, Stoof SP, van Ravenhorst MB, et al. Enhanced *Bordetella pertussis* acquisition rate in adolescents during the 2012 epidemic in the Netherlands and evidence for prolonged antibody persistence after infection. *Euro Surveill.* 2017;22.
21. van der Lee S, van Rooijen DM, de Zeeuw-Brouwer ML, et al. Robust Humoral and Cellular Immune Responses to Pertussis in Adults After a First Acellular Booster Vaccination. *Front Immunol.* 2018;9:681.
22. Kenicer J, Hardie A, Hamilton F, Gadsby N, Templeton K. Comparative evaluation of the Diagenode multiplex PCR assay on the BD max system versus a routine in-house assay for detection of *Bordetella pertussis*. *J Clin Microbiol.* 2014;52:2668-70.
23. Lanotte P, Plouzeau C, Burucoa C, et al. Evaluation of four commercial real-time PCR assays for detection of *Bordetella* spp. in nasopharyngeal aspirates. *J Clin Microbiol.* 2011;49:3943-6.
24. King AJ, van Gorkom T, Pennings JL, et al. Comparative genomic profiling of Dutch clinical *Bordetella pertussis* isolates using DNA microarrays: identification of genes absent from epidemic strains. *BMC Genomics.* 2008;9:311.
25. Pillet S, Lardeux M, Dina J, et al. Comparative evaluation of six commercialized multiplex PCR kits for the diagnosis of respiratory infections. *PLoS One.* 2013;8:e72174.
26. Kennerknecht N, Riffelmann M, Schmetz J, Wirsing von Konig CH. Comparison of commercially available immunoblot assays measuring IgG and IgA antibodies to *Bordetella pertussis* antigens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2011;30:1531-5.
27. Riffelmann M, Thiel K, Schmetz J, Wirsing von Koenig CH. Performance of commercial enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to *Bordetella pertussis*. *J Clin Microbiol.* 2010;48:4459-63.
28. Xing D, Wirsing von Konig CH, Newland P, et al. Characterization of reference materials for human antiserum to pertussis antigens by an international collaborative study. *Clin Vaccine Immunol.* 2009;16:303-11.
29. Meade BD, Deforest A, Edwards KM, et al. Description and evaluation of serologic assays used in a multicenter trial of acellular pertussis vaccines. *Pediatrics.* 1995;96:570-5.
30. Nakamura Y, Kamachi K, Toyozumi-Ajisaka H, et al. Marked difference between adults and children in *Bordetella pertussis* DNA load in nasopharyngeal swabs. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17:365-70.
31. Mooi FR, van Loo IH, van Gent M, et al. *Bordetella pertussis* strains with increased toxin production associated with pertussis resurgence. *Emerg Infect Dis.* 2009;15:1206-13.
32. Burgos-Rivera B, Lee AD, Bowden KE, et al. Evaluation of Level of Agreement in *Bordetella* Species Identification in Three U.S. Laboratories during a Period of Increased Pertussis. *J Clin Microbiol.* 2015;53:1842-7.
33. ECDC. External quality assurance scheme for *Bordetella pertussis* serology 2013. 2014, ECDC: Stockholm.

Tabel 1. Beschrijving van kinkhoestdiagnostiek bij medisch microbiologische laboratoria en absolute aantallen (percentages) van de kinkhoestdiagnostiek, die in overeenstemming is met de (inter)nationale adviezen. ^{13,14,16}

	Uitvoering en afhandeling conform (inter)nationaal advies	kweek (9 MML's)	PCR (14 MML's)	serologie (16 MML's)
Uitgevoerde diagnostiek	Aantal aanvragen in 2015 per MML	1-72	1-332	52-1765 ^a 2-94 ^b
	Gemiddelde en mediaan van aantal testaanvragen	15,3 ; 7	126,5; 86	609,1; 388,5
	Percentage positieve uitslagen per MML in 2015	0%-100%	0%-28%	4%-29% ^a 0%-37% ^b
	Gemiddelde (mediaan) van percentage positieve uitslagen	29% (17%)	14% (15%)	18% (19%)
	Aandeel van totale diagnostiek in 2015 (11457 aanvragen)	107 (1%)	1645 (14%)	9705 (85%)
Kweek en PCR				
Afnameplaats monster	Nasofarynxswab of aspiraats	19/27 (70%)	33/62 (53%)	
Afnamewat	Dacron, nylon, rayon, calciumalginaat (alleen kweek), katoen (alleen PCR)	8/10 (80%)	14/14 (100%)	
Kweek				
Transportmedium	Regan-Lowe, Bordet-Gengou, Amies	7/9 (78%)		
Kweekmedia	Regan-Lowe/ Bordet-Gengou/ Stainer-Scholte met en zonder cefalexine	5/9 (56%)		
Incubatielijd in dagen	12 tot 14 dagen	4/9 (44%)		

^a = alleen de MML's die een test in IU/ml gebruikten, zijn meegenomen in deze berekening.

Vervolg tabel 1

	Uitvoering en afhandeling conform (inter)nationaal advies	Kweek (9 MML's)	PCR (14 MML's)	Serologie (16 MML's)
PCR				
PCR-target <i>B. pertussis</i>	IS481, IS481+IS1002, IS481+IS1002+IS1001, IS481+PtxP		12/14 (86%)	
PCR-target <i>B. parapertussis</i>	IS1001, IS1001+IS1002, IS1001+IS1002+IS481, IS1001+PtxP		10/14 (71%)	
Serologie				
Referentieserum	WHO-referentieserum IS 06/140 of een afgeleide daarvan			3/16 (19%)
Klassen antilichamen die gemeten worden	IgG			16/16 (100%)
Serologische techniek	ELISA of Multiplex			16/16 (100%)
Antigeencoatings bij ELISA	(Gezuiverd) pT			15/16 (94%)
Afkapwaarde IgG-anti-PT voor recente pertussis-infectie	Afkapwaarde 100 IU/ml of meer			11/13 (85%) ^a
Minimumtijd in dagen tussen monsters bij tweepuntserologie	14 dagen			11/16 (69%)
Maximumtijd in dagen tussen monsters bij tweepuntserologie	28 dagen			1
	Onbekend			14
	Afhankelijk van leeftijd en ziekte duur			1

Vervolg tabel 1.

	Uitvoering en afhandeling conform (inter)nationaal advies	Kweek (9 MML's)	PCR (14 MML's)	Serologie (16 MML's)
Uitvoering tweepuntserologie	Eerste ronde vergelijken met tweede ronde			6
	Beide samples in dezelfde run			10
Titerstijging voor positieve tweepuntserologie	Minstens drievoudig met waarde hoger dan 20 IU/ml			9/16 (56%)
Interpretatie titer	Afkapwaarde afhankelijk van leeftijd, vaccinatiestatus, ziekte duur en/of tijd tussen monsters			10/16 (63%)