
Centre National de Référence

Streptococcus agalactiae



Rapport d'activités

2018

Dr.Sc. Rosalie SACHELI

Prof. Pierrette MELIN

Table des matières

Table des matières.....	2
1 Introduction	4
2 Missions générales et spécifiques du CNR <i>S.agalactiae</i> (CNR GBS).....	4
3 Résumé des activités du CNR GBS pour l'année 2018	5
4 Démarche qualité	5
4.1 Accréditation	5
4.2 Contrôles de qualité externes supranationaux.....	6
5 Techniques analytiques utilisées et objectifs	6
6 Le Bilan des activités du CNR GBS : expertise et surveillance	8
6.1 Bilan global 2018.....	8
6.2 Souches isolées d'infections néonatales invasives.....	8
6.2.1 Infections néonatales précoces ou EOD (pour Early Onset Disease)	9
6.2.2 Infections néonatales tardives ou LOD (pour Late Onset Disease).....	11
6.2.3 En résumé, concernant les souches d'infection néonatale reçues en 2018	12
6.2.4 Infections fœtales (<i>mort in utero, fausse couche</i>)	13
6.3 Souches isolées chez la femme dans un contexte obstétrical	13
6.4 Souches isolées chez l'enfant	13
6.5 Souches de GBS isolées d'infections invasives de l'adulte.....	13
6.5.1 Age et sexe des patients présentant une infection invasive à GBS chez l'adulte 14	
6.5.2 Distribution des types capsulaires de GBS responsables d'infection invasive chez l'adulte 14	
6.6 Surveillance de la résistance aux agents antimicrobiens.....	16
6.6.1 Pénicilline et autres β -lactames	16
6.6.2 Macrolide et clindamycine	17
6.6.3 Fluoroquinolones.....	19

6.6.4	Tétracycline	19
6.7	Protéines de pili.....	20
6.8	Contribution aux réseaux de surveillance internationaux.....	22
7	Activités de Conseil, d'information, de formation	22
7.1	Activité auprès des autorités publiques	22
7.2	Activités auprès des professionnels	22
7.3	Activité d'enseignement	22
7.4	Conseils et expertises diverses	22
8	Recherche, communication et publication	23
8.1	Recherche.....	23
8.2	Publications et communications (2018).....	23
8.2.1	Publications.....	23
8.2.2	Communication orale/poster.....	23
8.2.3	Conférences sur invitation de P.Melin.....	23
8.2.4	Communication à des congrès	23

1 Introduction

Une des missions principales du Centre National de Référence (CNR) *Streptococcus agalactiae*, aussi identifié comme streptocoque du groupe B de Lancefield (GBS), est de contribuer à la surveillance épidémiologique nationale de l'évolution et des caractéristiques des infections chez l'homme et tout particulièrement des formes graves survenant dans la période périnatale. Cette surveillance comprend également l'étude de la sensibilité des GBS aux agents antimicrobiens.

Dans le cadre de cette activité, tous les laboratoires de biologie clinique de Belgique (et du Grand-Duché du Luxembourg) sont invités à envoyer au CNR chaque isolat de GBS d'origine humaine associé à une infection invasive en l'accompagnant d'une fiche spécifique permettant le recueil de renseignements cliniques du patient, d'information sur le prélèvement et dans certains cas, de caractéristiques de la souche isolée en termes de virulence ou de sensibilité aux agents antimicrobiens.

En 2018, 57 laboratoires répartis dans tout le pays ont envoyé au CNR GBS un total de 291 souches dont 285 ont bien été confirmées comme des GBS. Ces souches ont été isolées principalement de sang, de liquide céphalo-rachidien (LCR) ou d'autres sites normalement stériles. Certaines souches provenaient d'autres sites tels que des urines ou des frottis vaginaux ; ces souches ont été principalement envoyées au CNR parce qu'elles présentaient un profil de résistance atypique à certains antibiotiques.

2 Missions générales et spécifiques du CNR *S.agalactiae* (CNR GBS)

- Développer son expertise et son expérience scientifique dans le domaine des infections à GBS, des stratégies de prévention, de la détection et caractérisation des GBS, des méthodes de diagnostic et être en mesure d'en fournir la preuve sur la base de publications scientifiques.
- Apporter un soutien technique et de conseil aux laboratoires agréés
 - en les informant des critères cliniques, microbiologiques et épidémiologiques d'analyse de souche de GBS et des conditions d'expédition au CNR ;
 - en le tenant informé des nouvelles techniques pertinentes pour la détection par culture, par test rapide, pour l'identification ;
 - en les informant de mécanismes émergeant de résistance à des agents antimicrobiens d'intérêt ;
 - en les tenant informés des mises à jour et du contenu des recommandations pour la prévention des infections périnatales.
- Confirmer l'identification des souches envoyées au CNR et les caractériser à visée épidémiologique : typage capsulaire, typage des pili, détermination des profils de sensibilité aux antibiotiques, caractérisation des mécanismes de résistance
- Recueillir des données cliniques, épidémiologiques associées aux cas déclarés d'infection invasive.
- Participer à la surveillance nationale des cas d'infections néonatales sévères.
- En collaboration avec l'ISP, encourager les laboratoires du réseau « vigie », mais aussi de tous les laboratoires agréés, à envoyer des souches pour analyse afin d'obtenir une bonne représentativité géographique.

- Contribuer activement au développement, la diffusion et l'évaluation des stratégies de prévention des infections périnatales à GBS.
- Suivre les innovations dans le domaine des GBS, participer au développement et à la validation de nouvelles techniques classiques ou moléculaires pour le diagnostic et le typage.
- Suivre l'évolution du développement de vaccins et apporter un avis d'expert auprès des autorités de santé publique.
- Apporter la preuve (accréditation BELAC) de l'application des exigences de qualité selon les normes ISO 15189 pour les activités de référence.
- Participer activement aux réseaux internationaux de surveillance et aux projets internationaux de recherche sur GBS.
- Valoriser les résultats scientifiques obtenus dans le domaine en participant à leur diffusion par des publications, communications lors de congrès ou réunions scientifiques, formations continues et contribution aux guides de prescription des antibiotiques.
- Constituer et maintenir une collection d'isolats représentatifs d'infections invasives, de colonisation, de types particuliers, de résistance particulière aux antibiotiques.

3 Résumé des activités du CNR GBS pour l'année 2018

Outre ses activités de surveillance des cas invasifs causés par le GBS chez le nouveau-né et l'adulte, le CNR s'est attaché, au cours de l'année 2018 :

- A développer et renforcer les techniques d'identification moléculaire des mécanismes de résistance à certains antibiotiques et en particulier à l'érythromycine et à la clindamycine
- A développer de nouveaux outils diagnostics notamment en évaluant l'efficacité de tests de détection rapides des GBS par PCR à la maternité.
- A développer et maintenir le système de qualité selon les normes ISO 15189 en vue du maintien de l'accréditation BELAC.

4 Démarche qualité

Le CNR GBS fait partie du service de microbiologie clinique du CHU de Liège qui a un système de qualité répondant aux obligations de l'agrément des laboratoires de biologie clinique, y compris la participation au contrôle national de qualité organisé par l'ISP.

4.1 Accréditation

Les laboratoires de biologie clinique du CHU de Liège ont mis en place depuis de nombreuses années un système de qualité. Leur accréditation a évolué notamment de la norme 17025 vers la norme 15189. Dans cette démarche qualité dans le service de microbiologie, le scope accrédité concernait spécifiquement certains secteurs d'activités comme la microbiologie moléculaire. Parallèlement, la même démarche a été mise en place en vue de l'accréditation des activités du CNR GBS : culture, méthodes d'identification, de typage des GBS ainsi que des méthodes de détermination de leur sensibilité aux agents antimicrobiens.

Cette démarche pour mettre en conformité le CNR avec la norme ISO 15189, comprenait la rédaction de nouvelles procédures pour chaque analyse proposée, la formalisation des dossiers de validation complets pour chacune de ces techniques déjà utilisées ou en cours de développement et un état des lieux des procédures et protocoles existants pour mettre en exergue leurs points faibles et établir les mesures correctives pour y remédier. La démarche consistait également en la mise en conformité des locaux et appareillages dédiés aux activités du CNR et en l'organisation d'audits internes. La mise en place du système qualité du CNR GBS s'est effectuée de 2011 à mi-2013. L'audit d'accréditation avec obtention du Certificat BELAC a eu lieu en mai 2013. Depuis plusieurs audits de surveillance ont eu lieu (2016, 2017 et 2018) sans remarques particulières pour le CNR GBS.

4.2 Contrôles de qualité externes supranationaux

En relation avec la mise en place du système qualité, le CNR GBS a contribué à la mise en place d'un contrôle de qualité externe dans un projet européen et a participé à plusieurs reprises à ces contrôles externes dont les résultats ont fait l'objet d'une publication (Afshar B. et al, 2011).

Le CNR GBS a aussi organisé et participe annuellement à des rings tests inter laboratoires avec d'autres CNR GBS européens afin de valider les analyses pour lesquelles il n'existe pas de contrôle proposé par un organisme externe. Ces contrôles couvrent les techniques d'identification, les méthodes de typages des polysaccharides capsulaires phénotypiques et génotypiques ainsi que la détermination de sensibilité aux agents antimicrobiens.

5 Techniques analytiques utilisées et objectifs

Description des tests	Tests demandés par les laboratoires agréés			Tests réalisés dans un but de surveillance		Tests réalisés pour validation de techniques
	Confirmation identification	Typage capsulaire (CPS)	Confirmation de CMI Pénicilline ou autres antibiotiques sur demande spécifique	Surveillances microbiennes et épidémiologiques (CPS, pili, Antibiogramme et facteurs de virulence)		
				GBS isolés d'infection invasive	GBS isolés de porteurs sains ⁽¹⁾	
1- CULTURE /sous culture de réisolement⁽²⁾	X	X	X	X	X	X
2- TEST D'IDENTIFICATION utilisés seuls ou en combinaison (et de vérification de l'identification des souches reçues)⁽²⁾ a- Tests biochimiques b- Détection immunologique de l'antigène de groupe B c- Spectrométrie de masse MALDI-TOF	X	X	X	X	X	X
3- DETERMINATION DU TYPE CAPSULAIRE (CPS) a- Sérotypage capsulaire (Strep B latex, SSI, Denmark) b- Génotypage capsulaire (PCR)	(X) ⁽³⁾ (X) ⁽³⁾	X X		X ⁽³⁾ X ⁽³⁾	X X	X X
4- DETERMINATION DE LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES a- Détermination des CMI b- Détermination du phénotype MLS c- Détermination du génotype MLS (PCR)	(X)		X	X X X	X X X	(X) ⁽⁴⁾ (X) ⁽⁴⁾ (X) ⁽⁴⁾
5-PCR GENES CODANT POUR LES PROTEINES DES PILI				X	X	
6- PCR GENES CODANT POUR DES PROTEINES DE SURFACE NON PILI				X	X	
7-MULTIPLE LOCUS SEQUENCE TYPING				X	X	

(1): Des études et enquêtes de surveillance épidémiologique des GBS de colonisation chez des porteurs sains sont organisées périodiquement. Les laboratoires sont invités à participer à des protocoles spécifiques pour lesquels les instructions concernant les critères de sélection, les modalités de prélèvement, de transport et de conservation sont donnés.

(2): Toutes les souches envoyées au CNR sont sous-cultivées en vue de vérifier leur identification et pour obtenir une culture pure.

(3): Le typage capsulaire est réalisé pour toutes les souches invasives, il est rapporté au laboratoire demandeur et les résultats seront utilisés pour des analyses ultérieures des études de surveillance épidémiologiques.

(4): Les tests de sensibilité aux agents antimicrobiens peuvent être réalisés an accord avec le protocole d'étude.

6 Le Bilan des activités du CNR GBS : expertise et surveillance

Dès réception des souches, elles sont systématiquement mises en culture, leur identification est vérifiée et le type capsulaire est déterminé ; une très petite minorité de souches restent non typables. Des tests de sensibilité aux agents antimicrobiens sont réalisés. Les rapports de résultats sont envoyés au laboratoire expéditeur de la souche. Toutes les souches de GBS confirmées sont mises en collection (congélation à -80°C dans du lait écrémé). La température des congélateurs est sous surveillance informatisée. L'ensemble des données est conservé dans le système informatique des laboratoires et réseau de sauvegarde de l'institution. D'autres analyses génotypiques de caractérisation des souches et des mécanismes de résistance aux agents antimicrobiens mis en évidence sont réalisées par série tout au long de l'année.

6.1 Bilan global 2018

En 2018, 291 souches ont été expertisées au CNR GBS à la demande de 57 laboratoires répartis dans tout le pays. L'identification GBS a été confirmée pour 285 souches. Un total de 273 souches provenait d'infections invasives ; ces souches avaient été isolées d'hémocultures, de liquides céphalo-rachidiens (LCR) ou d'autres sites normalement stériles. Pour l'analyse des résultats présentés dans ce rapport, les souches ont été regroupées par catégorie de patients infectés par GBS (nouveau-né avec infection précoce ou Early Onset Disease - EOD / infection tardive ou Late Onset Disease – LOD, et adultes dans un contexte obstétrical ou non).

Comparativement aux années du début de la décennie 2010, en 2016, 2017 et 2018, le recrutement des laboratoires envoyant, sur base volontaire, au CNR GBS, des souches d'infections invasives néonatales et de l'adulte, a augmenté. Parallèlement, une croissance du nombre total de souches reçues annuellement est aussi observée (cf. Figure 1). Cette augmentation est de 111% pour les souches isolées d'infection invasive chez l'adulte et de 103% pour les souches isolées d'infection invasive chez le nouveau-né, soit une augmentation moins marquée.

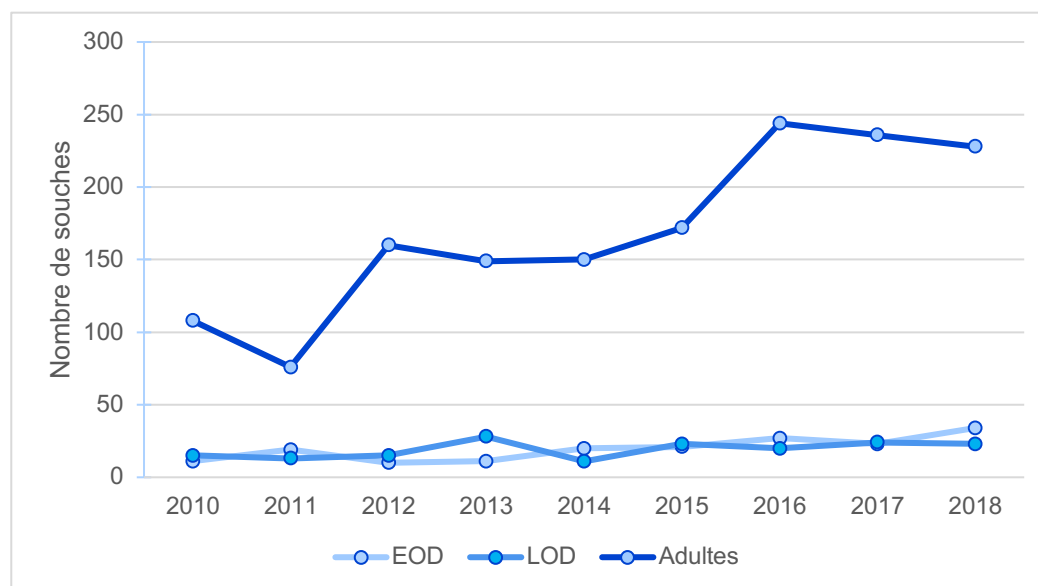


Figure 1: Evolution du nombre total de souches de GBS isolées d'infections invasives chez l'adulte et le nouveau-né (EOD et LOD) de 2010 à 2018

6.2 Souches isolées d'infections néonatales invasives

En 2018, 57 souches avaient été isolées à partir de sang ou de LCR de nouveau-nés présentant un épisode d'infection invasive prouvée : 34 cas d'infection précoce (<=6 jours de vie) et 23 cas

d'infection tardive (se manifestant après la première semaine de vie jusqu' à 90 jours, un cas d'infection très tardive survenue plus tard, à 16 semaines de vie, a été rapporté en 2018 et repris dans les cas de LOD dans ce rapport). En 2018, les souches isolées d'infection néonatale représentaient 20% du nombre total de souches de GBS reçues dans l'année contre 25,9% en 2018. Néanmoins, comme décrit précédemment, probablement par un meilleur recrutement des déclarations volontaires, le nombre de souches néonatales expertisées annuellement par le CNR GBS a doublé avec quelques variations annuelles du rapport du nombre de souches isolées de cas d'infection invasive néonatale précoce et tardive. Ainsi en 2018, par rapport à 2010, l'augmentation du nombre de souches d'infection précoce est de 183% contre une augmentation de 53% pour les souches d'infection tardive.

En 2016 et en 2018, le ratio nombre de cas d'infections néonatales précoces sur nombre de cas d'infections néonatales tardives était respectivement de 1,35 et 1,47 alors que de 2010 à 2013 il était de moins de 1. Pour rappel, en 2002 avant la publication de la stratégie de prévention des infections néonatales précoces, basée sur un dépistage prénatal universel et une antibioprophylaxie intrapartum des femmes GBS positives, ce ratio était de 2,8. L'évolution des nombres de cas d'infections précoces et tardives rapportées au CNR est illustré dans la figure 2. L'augmentation observée en 2018 du rapport du nombre de cas EOD/LOD devra retenir l'attention dans les années à venir. Il est en effet important de s'assurer que cette augmentation du rapport EOD/LOD ne reflète pas une érosion possible de l'adhésion aux stratégies de prévention recommandées en Belgique.

Ces indicateurs sont malheureusement incomplets puisque l'envoi des souches au CNR se fait sur base volontaire et que les infections invasives à GBS ne sont pas à déclaration obligatoire. Un des objectifs du CNR pour les prochaines années serait d'obtenir des données exhaustives pour des populations déterminées afin d'évaluer l'efficacité des stratégies de prévention mises en place.

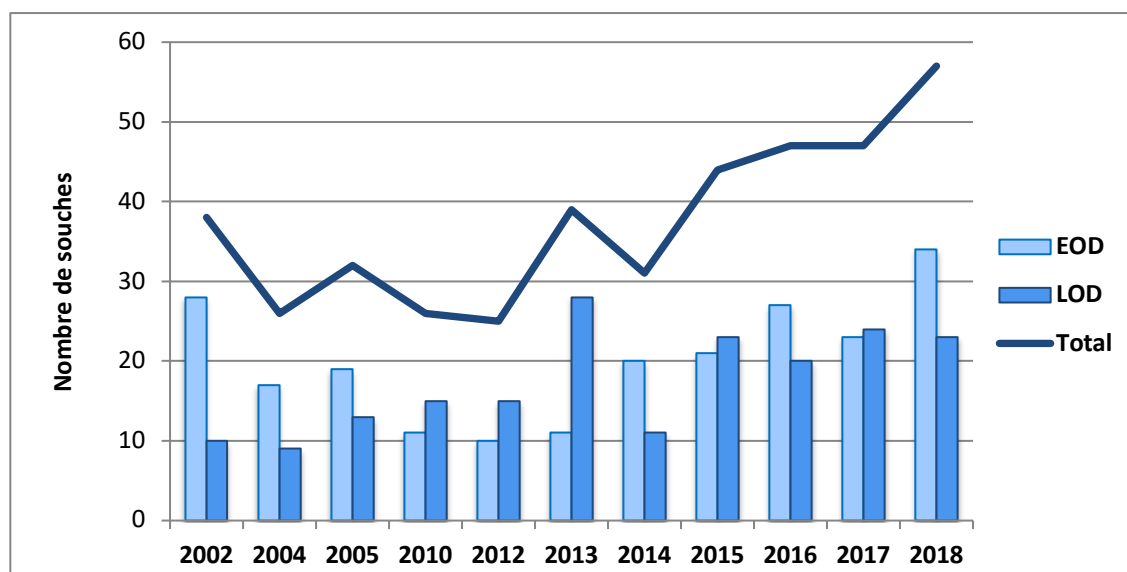


Figure 2: Répartition annuelle des souches de GBS isolées d'infection néonatale en fonction du type d'infection précoce (EOD) ou tardive (LOD) de 2002 à 2018

6.2.1 Infections néonatales précoces ou EOD (pour Early Onset Disease)

En 2018, les souches de GBS isolées de 34 cas d'infections néonatales précoces ont été caractérisées. Toutes les souches étaient isolées d'hémocultures.

Les manifestations cliniques sont principalement celles d'une bactériémie, évoluant vers un sepsis plus ou moins sévère. Dans quelques cas, le syndrome clinique comprend également une

méningite. Le pourcentage de cas d'infections précoces avec méningite varie assez peu, de 0 à 14,8%. (Voir **figure 3**). Il est de 14,7% en 2018.

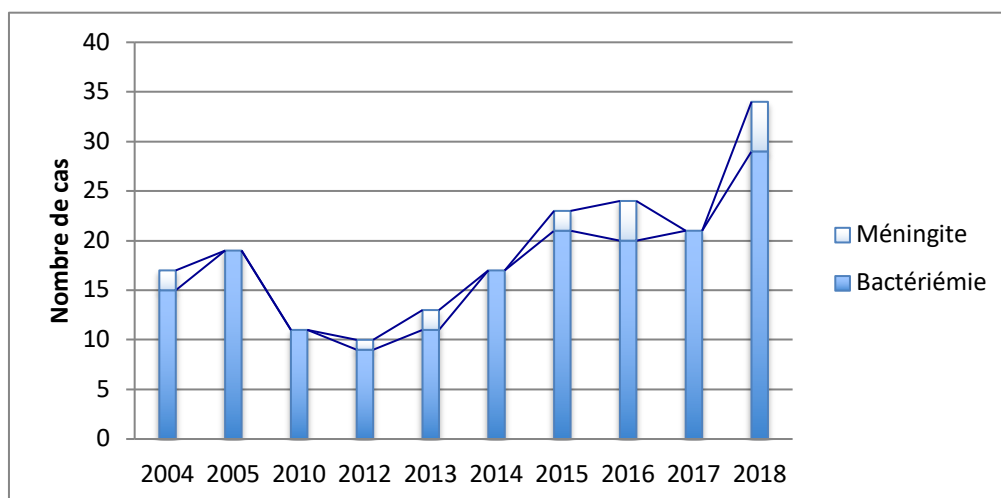


Figure 3 : Répartition du nombre annuel de cas d'infection néonatale précoce à GBS associée ou non à une méningite en 2004, 2005, 2010, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017 et 2018.

L'EOD est caractérisé par l'apparition rapide des signes d'infection : au moins dans 90 % des cas, l'infection était déclarée dans les 24 premières heures de vie.

Le sexe ratio M/F pour ce type d'infection était de 0,78 (19 filles contre 15 garçons).

La **figure 4** présente la distribution des types capsulaires des souches isolées d'infections précoces. Par ordre décroissant, le type le plus fréquent en 2018 était le III (48,5% des cas, n=16), suivi par les types Ia (14,7% des souches, n=5), II (14,7% des souches, n=5), V, (8,8% des souches, n=3), Ib (8,8% des souches, n=3), IV (2,9% des souches, n=1) et IX (2,9% des cas, n=1). Les autres types n'ont pas été identifiés au sein des souches isolées d'infection précoce en 2018. Comme rapporté précédemment, toutes les souches d'infection précoce expertisées exprimaient une capsule identifiable par agglutination.

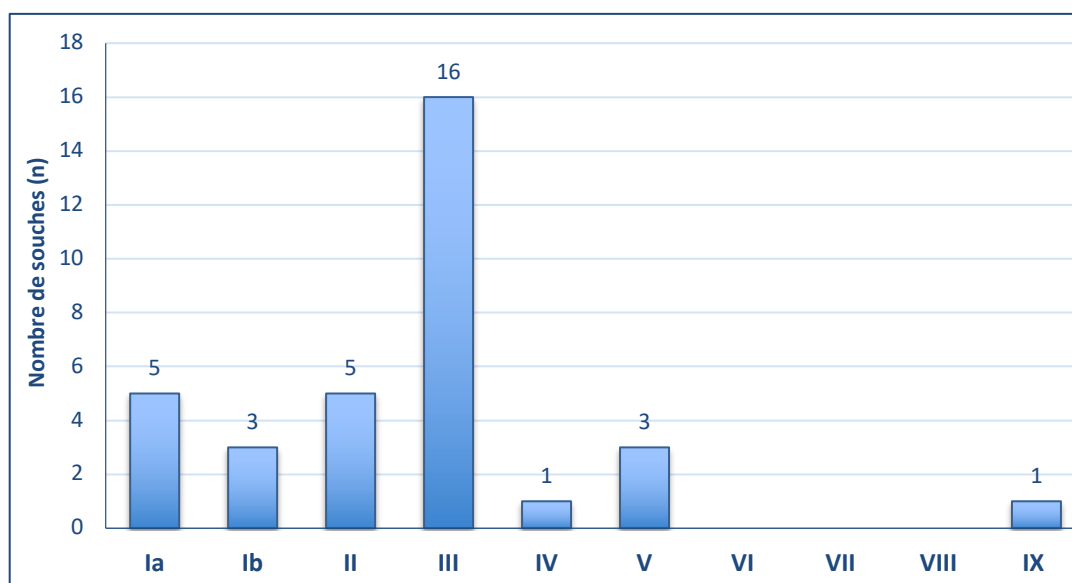


Figure 4 : Distribution des types capsulaires des 34 souches de GBS isolées d'infection néonatale précoce (EOD) en 2018

Le suivi de l'évolution des distributions annuelles des types capsulaires des souches de GBS isolées d'infection néonatale précoce montre principalement une diminution de la fréquence du type Ia et l'importance confirmée du type III (voir **figure 5**).

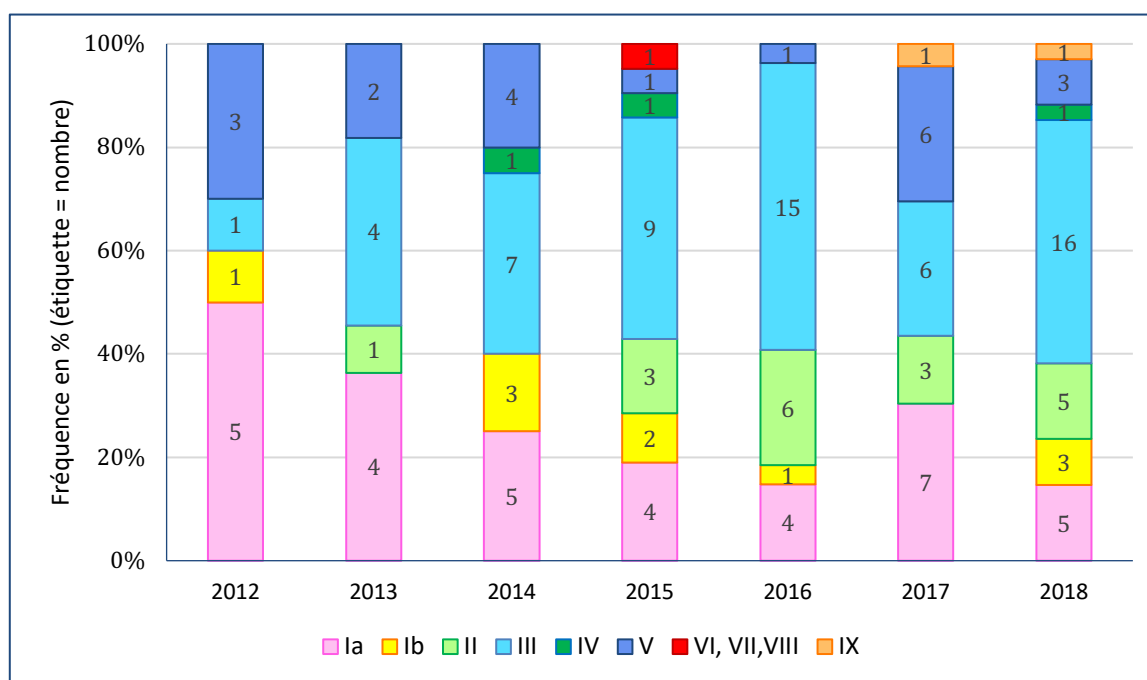


Figure 5 : Distribution annuelle des types capsulaires (Ia, Ib à IX) des souches de GBS isolées d'infection néonatale précoce (EOD) entre 2012 et 2018

6.2.2 Infections néonatales tardives ou LOD (pour Late Onset Disease)

En 2018, les souches de GBS isolées d'hémoculture ou de LCR de 23 cas d'infection néonatale tardive (incluant 1 « very late onset disease » (VLOD) à 112j) ont été caractérisées. Dans 7 cas sur 23 (30,4%), une méningite était associée à l'infection tardive (parmi les cas renseignés). L'âge moyen de l'apparition de l'infection était de 43,3 jours (de 9 à 90 jours, exclu le VLOD à 112j). Le sexe ratio M/F était de 1,8 (15 garçons et 8 filles)

La **figure 6** présente la distribution des types capsulaires des souches isolées d'infections tardives. Le type III prédomine largement dans 82,6% des cas (n= 19). Suivaient le type Ib (8,6% n=2) et V (8,6%, n=2).

Le suivi de l'évolution des distributions annuelles des types capsulaires des souches de GBS isolées d'infection néonatale tardive confirme l'importance du type III, le peu de variété et la faible fréquence des autres types (voir **figure 7**).

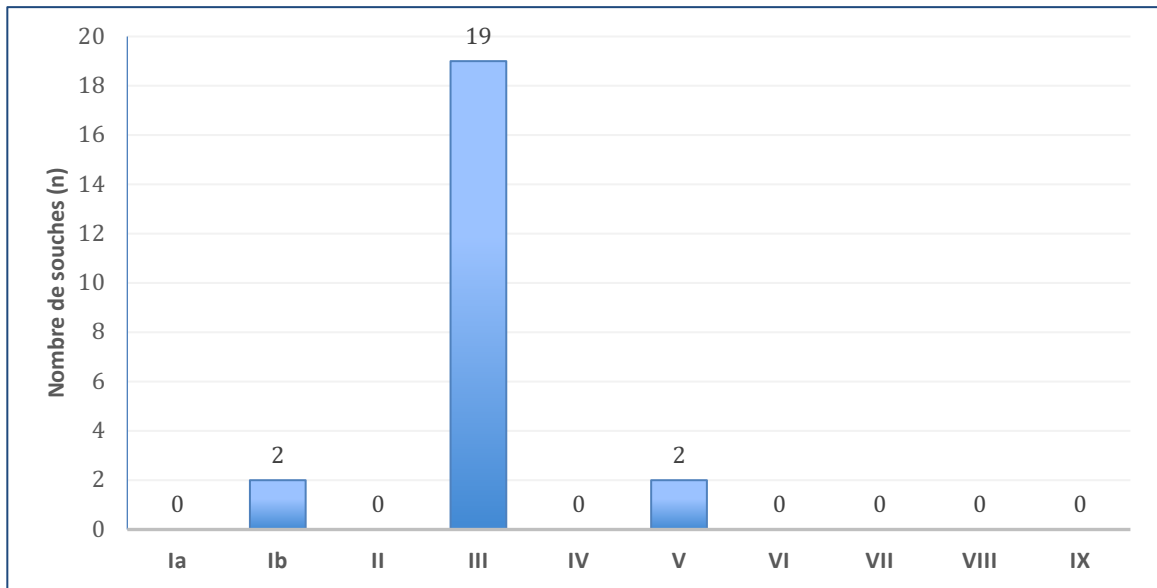


Figure 6 : Distribution des types capsulaires des 23 souches de GBS isolées d'infection néonatale tardive (LOD) en 2018

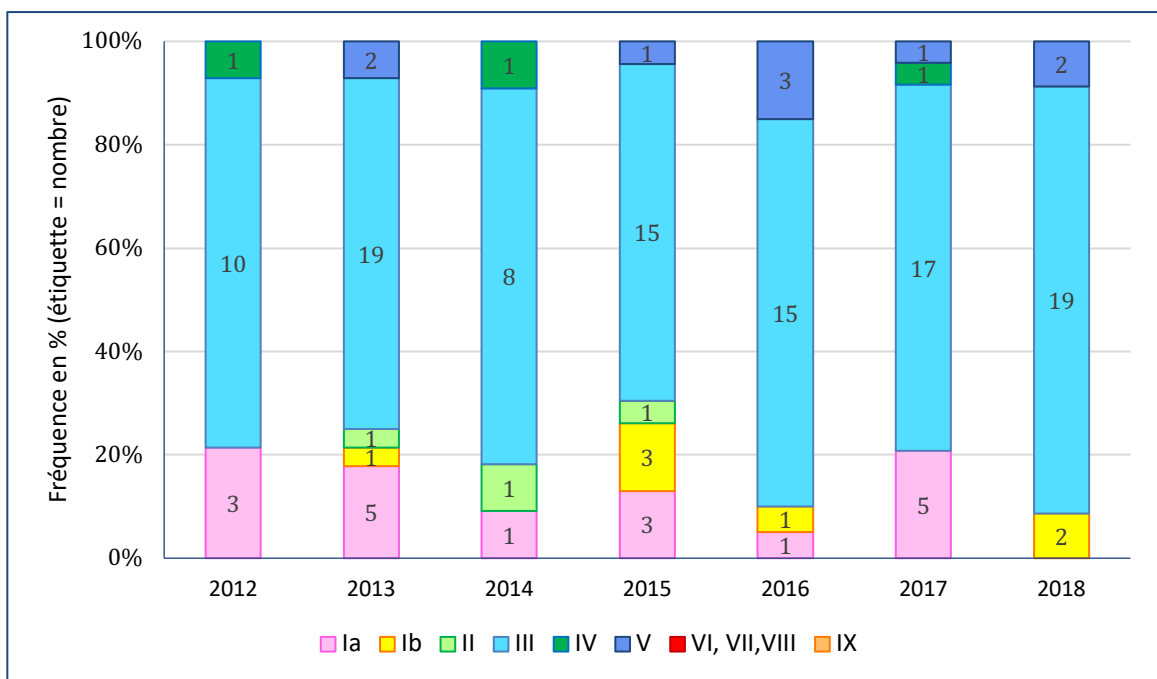


Figure 7: Distribution annuelle des types capsulaires des souches de GBS isolées d'infection néonatale tardive (LOD) entre 2012 et 2018

6.2.3 En résumé, concernant les souches d'infection néonatale reçues en 2018

Globalement, le recrutement augmente et se traduit par une augmentation du nombre de souches isolées d'infection néonatale reçues par le CNR.

On observe également une augmentation du rapport des souches d'EOD/LOD. Cette modification devra retenir l'attention pour la surveillance à venir.

Comme précédemment, les souches de type capsulaire III sont très majoritaires dans les infections tardives (LOD) mais prédominent également dans les infections précoces (EOD).

6.2.4 Infections fœtales (*mort in utero*, *fausse couche*)

En 2018, 2 cas de *mort in utero* et 4 fausses couches/*mort in utero* probables potentiellement causée par un GBS ont été rapportées au CNR.

Même si ces cas sont rares, il est important de signaler au CNR, toute fausse couche ou *mort in utero* pouvant être mis en relation avec une infection à GBS. En effet la future vaccination pourrait prévenir ces cas et le suivi de leur incidence pourrait être un paramètre d'efficacité vaccinale à mesurer.

6.3 Souches isolées chez la femme dans un contexte obstétrical

En 2018, 5 souches de cas de bactériémie durant la grossesse ont été expertisées.

Parmi les types retrouvés pour les GBS impliqués dans ce type d'infections, le type Ia a été retrouvés à 3 reprises et le type V 2 fois.

6.4 Souches isolées chez l'enfant

En 2018, 2 souches ont été isolées chez 2 enfants de 2 ans. Le contexte clinique des deux enfants n'a pas été transmis au CNR mais il s'agissait de 2 cas de bactériémie. Ce type d'infection à GBS chez le jeune enfant au-delà de 1 an est particulièrement rare. Depuis 2012, aucun cas similaire n'avait été rapporté par le CNR.

6.5 Souches de GBS isolées d'infections invasives de l'adulte

En 2018, le CNR GBS a analysé 203 souches de GBS responsables d'infections invasives chez l'adulte en dehors d'un contexte de grossesse (1 souche par épisode infectieux), 3 âges étaient non renseignés et ont été placés par défaut dans l'analyse des infections chez l'adulte.

Le tableau ci-après représente la distribution des manifestations cliniques des infections invasives associées aux GBS isolés principalement d'hémocultures.

Manifestations cliniques	Nombre (%) de cas en 2018 (N =203)
Bactériémies isolées	105 (51,8)
Infections localisées (avec ou sans bactériémie) :	
- Origine ostéo-articulaire	15 (7,4)
<i>Ostéite/ostéomyélite</i>	0 (0)
<i>Arthrite septique</i>	3 (1,5)
<i>Autre (origine ostéo-articulaire)</i>	12 (5,9)
- <i>Infections peau et tissus mous (érysipèle, cellulite, abcès, plaies)</i>	33 (16,3)
- Infections respiratoires	7 (2)
- Méningite	5 (1,5)
- Infection voies urinaires	1 (1)
- Endocardite	7 (2,5)
- Autres	0 (0)
- Non spécifiées	30 (14,7)

Tableau 1: Caractéristiques des manifestations cliniques des infections à GBS rencontrées chez l'adulte en dehors d'un contexte de grossesse, en 2018.

Le taux de diagnostics/manifestations cliniques non spécifié est de 14,7%. Il était de 21% en 2015 ; ce manque d'informations est donc en baisse par rapport aux années précédentes. Nous insistons régulièrement sur l'importance du remplissage du formulaire de demande mis à la disposition par le CNR et disponible sur simple demande à Sciensano ou au CNR GBS ou directement en ligne sur le site des CNR, Sciensano. (<https://www.sciensano.be/fr/nrc-nrl/centre-national-de-referance-cnr-de-streptococcus-agalactiae>)

6.5.1 Age et sexe des patients présentant une infection invasive à GBS chez l'adulte

En 2018, le groupe des > de 70 ans était le plus touché par ces infections (dans 3 cas, l'âge/date de naissance n'étaient pas renseignés).

Le ratio Homme /Femme était de 1 (101 hommes, 101 femmes, 1 sexe non renseigné).

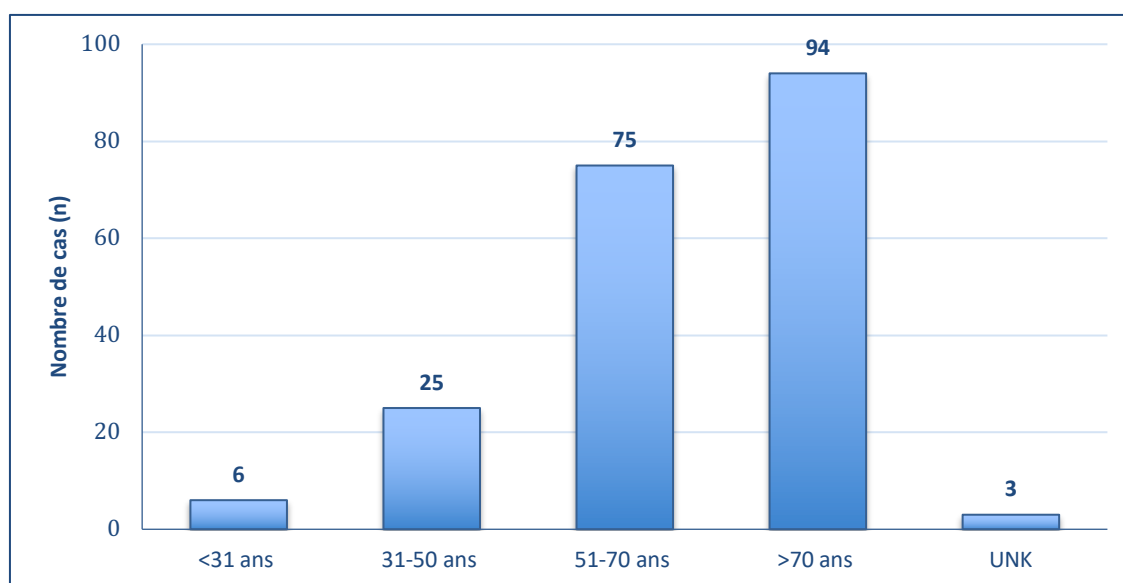


Figure 8 : Distribution du nombre de cas d'infection invasive à GBS chez l'adulte en fonction de l'âge, en 2018.

6.5.2 Distribution des types capsulaires de GBS responsables d'infection invasive chez l'adulte

La distribution des types capsulaires des GBS responsables d'infection chez l'adulte est différente de celle rencontrée dans les EOD et LOD chez les nouveaux nés. En 2018, comme le montre la **figure 9**, le type V prédomine avec 26,6% des cas (n=54), il est suivi par les types Ia dans 17,6% des cas (n=46), III dans 15,7 % (n=32), Ib dans 11,4% (n=23), II dans 10,8% (n=22), IV dans 9,4% (n=19). Les types VI et IX sont représentés à raison de 3 souches chacun (1,5% des cas) et le type VIII représente 0,5% des cas (n=1).

Le suivi de l'évolution des répartitions annuelles des types capsulaires des souches de GBS isolées d'infection invasive chez l'adulte confirme la dominance des types V, Ia et III, et le peu de variabilité des fréquences des types Ib, II et IV (voir **figure 10**).

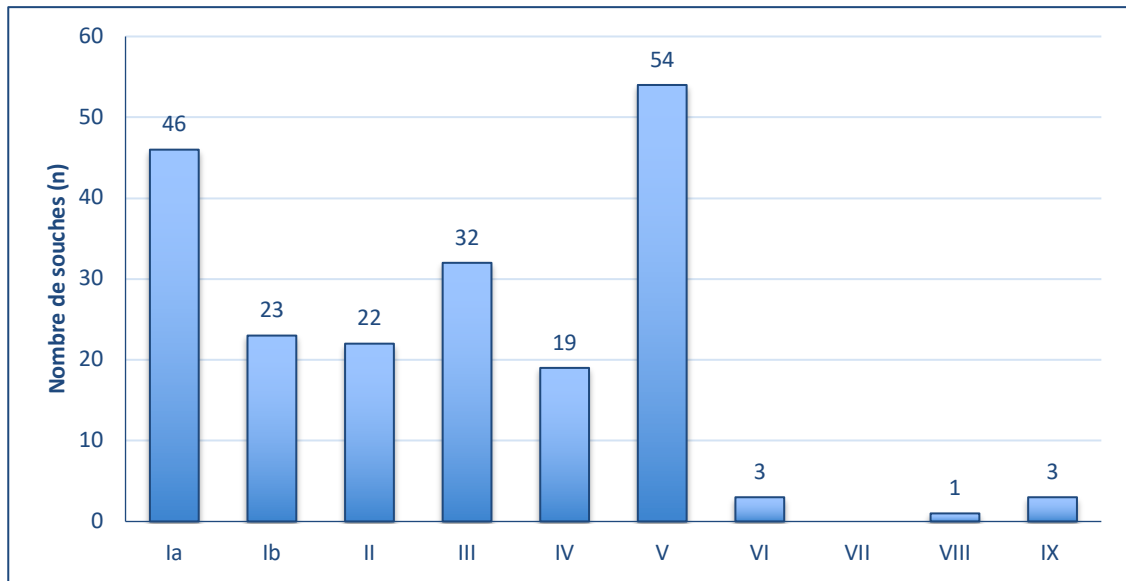


Figure 9 : Distribution des types capsulaires de 195 souches de GBS isolées d'infection invasives chez l'adulte en 2018.

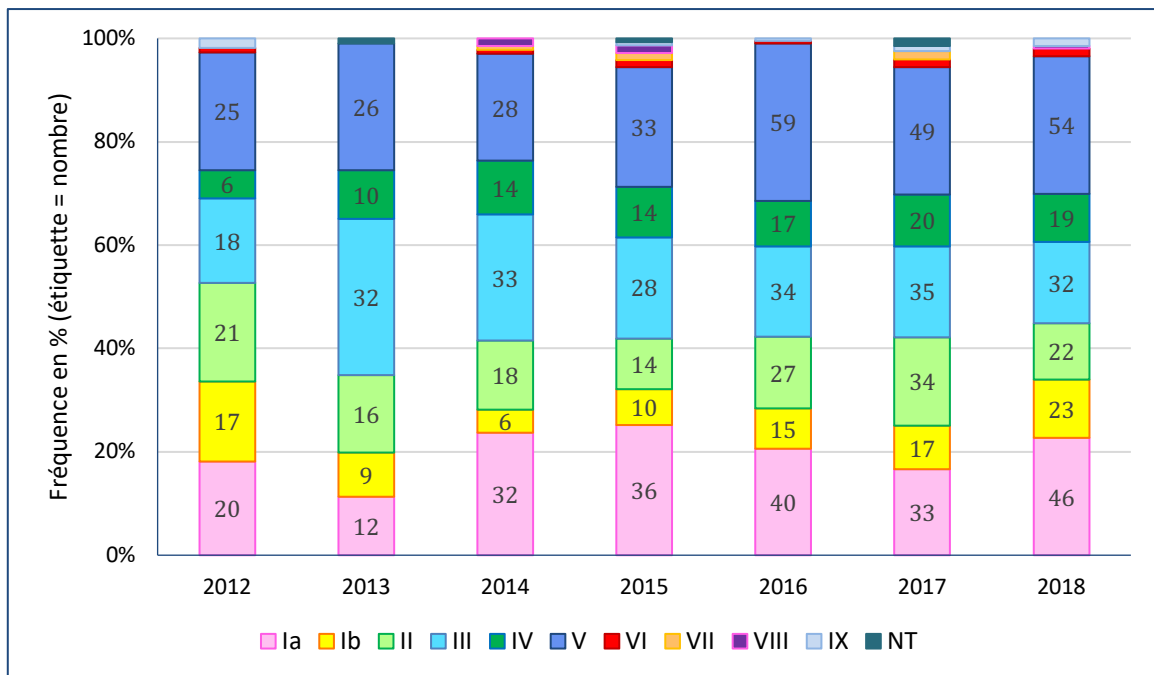


Figure 10 : Répartition annuelle des types capsulaires des souches de GBS isolées d'infection invasive chez l'adulte entre 2012 et 2018

La **figure 11** compare les distributions des types des GBS responsables d'infection invasives par groupe d'âge : adultes versus infections néonatales précoces et tardives. Cette figure montre clairement la prédominance du type III dans les infections néonatales tardives (LOD), cette prédominance est aussi présente pour les cas de EOD. Chez l'adulte, les types V, III et Ia sont prédominants (59,9 % des cas). Les types VI à IX sont très peu représentés en Belgique comme durant les années précédentes.

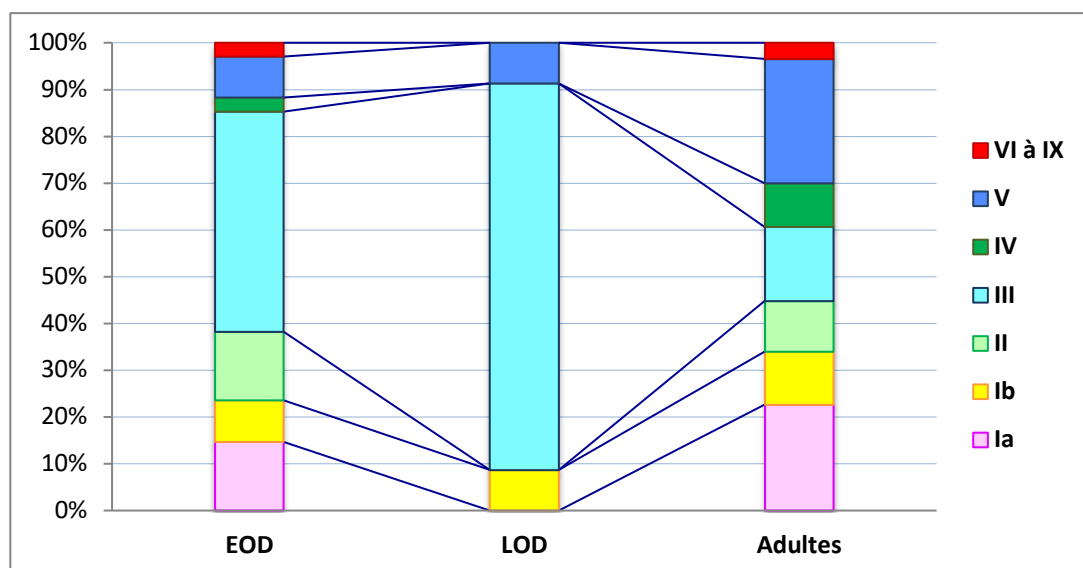


Figure 11: Répartition des types capsulaires de GBS responsables d'infections invasives (par groupe d'âge) en 2018.

6.6 Surveillance de la résistance aux agents antimicrobiens

Plusieurs techniques ont été utilisées en combinaison pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des agents antimicrobiens et caractériser les mécanismes de résistance au groupe Macrolides-Lincosamides-Streptogramines (MLS).

Les déterminations de CMI (pénicilline, ampicilline, céfazoline, céfotaxime, érythromycine, clindamycine, lévofloxacine, moxifloxacine, télythromycine et tétracycline) sont obtenues par une méthode en microdilution Sensititre utilisant des microplaques dont la composition est spécifique pour le CNR GBS. Alternativement et ponctuellement la méthode Etest en diffusion en agar est utilisée. Les critères d'interprétation utilisés sont ceux de l'EUCAST.

La détermination du phénotype de résistance MLS est obtenue par un test de double diffusion (disques ou Etests) en agar, le Dtest. Toutes les souches présentant une résistance à au moins un des agents du groupe MLS sont ensuite analysées par PCR pour mettre en évidence et identifier les gènes de résistance.

6.6.1 Pénicilline et autres β -lactames

En 2018, toutes les souches expertisées par le CNR GBS, comme toutes souches testées depuis 1995, restent bien sensibles à la pénicilline et autres β -lactames. La pénicilline est toujours l'antibiotique de référence pour le traitement et la prophylaxie des infections à GBS. Néanmoins quelques souches de sensibilité réduite à la pénicilline G ont été décrites initialement au Japon et puis aux Etats-Unis notamment. Afin d'identifier ces souches rapidement, le CLSI et l'EUCAST recommandent de toujours répéter le test de sensibilité d'une souche qui apparaîtrait non sensible et de **toujours faire confirmer ce résultat par un laboratoire de référence.**

- En routine clinique, la détermination de la sensibilité à la pénicilline permet d'inférer la sensibilité aux autres β -lactames y compris les céphalosporines et carbapénèmes. Depuis 2016, pour toutes les souches reçues par le CNR, un screening systématique de la réduction de la résistance à la pénicilline chez les GBS est effectué en appliquant la méthode de Kirby Bauer pour le ceftibuten, la ceftizoxime et l'oxacilline comme décrit par Kimura et al, en 2009 (*Practical disk diffusion test for detecting group B streptococcus with reduced penicillin*

susceptibility). En 2018, aucune souche n'a démontré une potentielle réduction de la sensibilité à la pénicilline. Si une souche montrait une possible réduction de sensibilité à la pénicilline, elle serait soumise à un séquençage de son génome afin de rechercher d'éventuelle(s) mutation(s) conduisant à des substitutions d'acides aminés dans les Penicillin Binding Proteins (PBP).

6.6.2 Macrolide et clindamycine

En 2018, l'incidence de la résistance des GBS à l'érythromycine est de 31,7 % et à la clindamycine 28,6%. Ce taux est donc en baisse par rapport aux années 2016 et 2017 où le pourcentage de souches résistantes à l'érythromycine et à la clindamycine avait atteint des taux de respectivement 42% et 34% (voir **figure 12**).

Cette résistance est presque comparable pour les souches isolées d'infections invasives chez l'adulte ou chez le nouveau-né avec toujours une incidence plus élevée pour les souches isolées chez l'adulte.

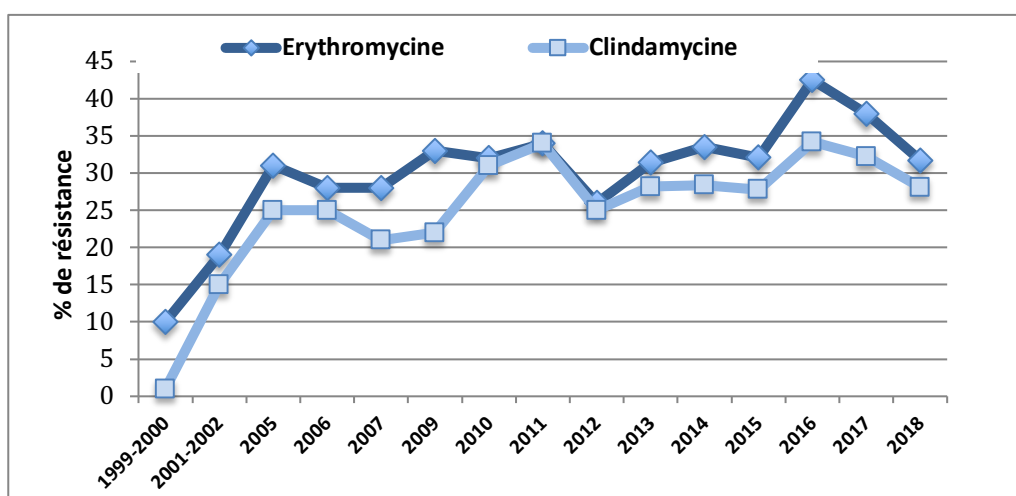


Figure 12 : Evolution de l'incidence de la résistance des GBS à l'érythromycine et à la clindamycine de 1999 à 2018

Depuis de nombreuses années, l'incidence de la résistance à l'érythromycine n'était pas distribuée de manière homogène au sein des différents types capsulaires ; en 2017, le range de taux de résistance s'étalait de 31% pour le type Ia à 62% pour les souches de type IV. En 2018, cela dit, la distribution des taux de résistance par type capsulaire est relativement homogène avec un range de 29,6% à 40% . L'incidence de souches résistantes est la plus élevée pour les GBS de type capsulaire V (voir **figure 13**).

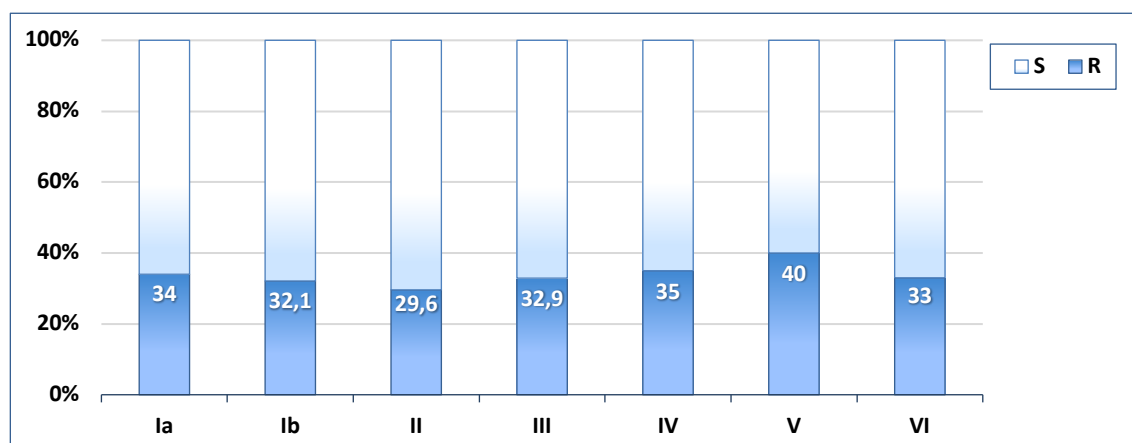


Figure 13 : Incidence de la résistance (%) aux macrolides et/ou au lincosamides au sein des différents types capsulaires de GBS, en 2018.

En 2018, pour les souches isolées d'infection invasive chez l'adulte (y compris dans un contexte obstétrical), on observe un taux de résistance à l'érythromycine et/ou clindamycine de l'ordre de 33,6% (70/208 souches de GBS), contre 38,7% en 2017. Pour les souches isolées d'EOD ou LOD du nouveau-né, on observe un taux de résistance à l'érythromycine et/ou clindamycine de l'ordre de 28% (16/57 souches de GBS) contre 22% en 2015 et 36% en 2017. La diminution de résistance par comparaison à 2017 s'observe ainsi pour les souches des différents groupes d'âge.

La plupart des souches démontrent un phénotype MLS c'est-à-dire présentant une résistance croisée entre les macrolides, les lincosamides et les streptogramines. On distingue le phénotype MLS constitutif (souches résistantes à la fois à l'érythromycine et à la clindamycine, MLSc) et le phénotype MLS inductible (résistance à l'érythromycine et résistance inductible à la clindamycine détectée *in vitro* en présence d'érythromycine, MLSi), respectivement dans 47,1% et 29% des souches de GBS résistantes à l'érythromycine/clindamycine. Le phénotype M représente 20% des souches et caractérise les souches résistantes isolément à l'érythromycine et sensibles à la clindamycine. En 2018, 3 souches de phénotype L (résistance isolée aux lincosamides) ont été identifiées au sein des souches invasives adultes belges. A noter que 3 souches supplémentaires présentaient ce phénotype au sein de souches de colonisation vaginale (non considérées dans le total des souches résistantes qui ne concerne que les souches invasives). La distribution des phénotypes de résistance des souches de GBS isolées d'infection invasive chez l'adulte et le nouveau-né et reçues par le CNR en 2018 est présentée en **figure 14**.

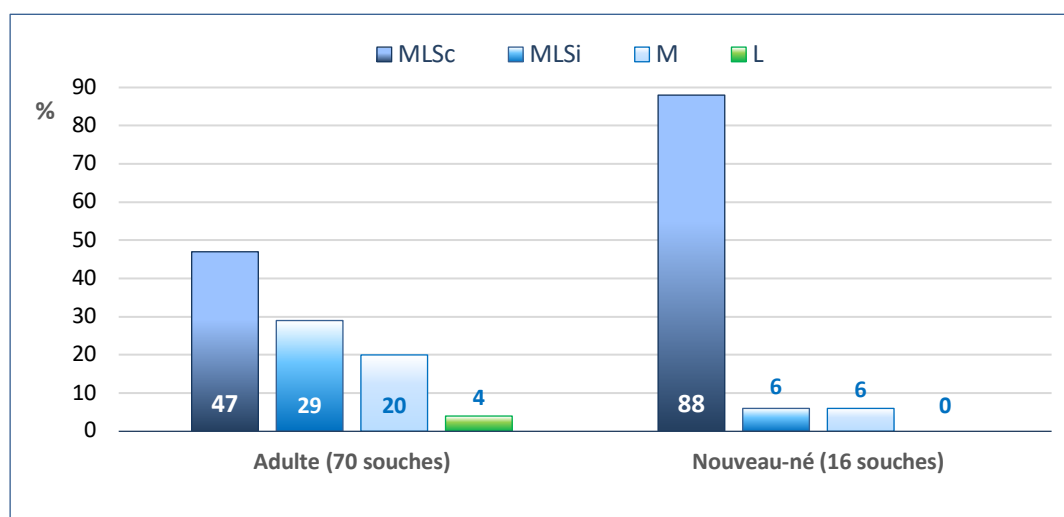


Figure 14: Répartition (en %) des phénotypes de résistance aux macrolides-lincosamides des souches de GBS isolées d'infection invasive chez l'adulte (N= 70) et de nouveau-né (16 souches), reçues par le CNR en 2018.

En ce qui concerne les infections invasives chez le nouveau-né, 88% des résistances observées sont du phénotype MLSc, 6% sont du phénotype MLSi et 6% sont du profil M. Le phénotype L n'est pas du tout représenté chez les bébés.

Les souches résistantes aux macrolides et lincosamides, isolées de cas d'infections invasives chez l'adulte et le nouveau-né, ont été caractérisées génotypiquement en vue de l'identification des gènes *ermTR* et *ermB* (caractérisés dans les cas de résistance MLS inductibles ou constitutives) et *mefA* (caractérisé essentiellement au sein des phénotypes M).

La distribution des gènes de résistance MLS recherchés au sein de ces souches résistantes à l'érythromycine et à la clindamycine isolées de cas d'infections invasives chez l'adulte (y compris contexte obstétrical), est présenté en **figure 15**. Le gène *ermB* est majoritairement présent dans 31 souches résistantes, dont 4 fois co-présent avec le gène *mefA*, 2 fois co-présent avec

le gène *lsaC*. Viennent ensuite les souches possédant le gène *ermTR* mis en évidence dans 24 souches, dont 2 fois co-présent avec le gène *mefA* et une fois co-présent avec le gène *lsaC*. Le gène *mefA* a été identifié dans 18 souches de GBS : isolément pour 12 souches et comme décrit ci-dessus 4 fois associé au gène *ermB* et 2 fois au gène *ermTR*. Le gène *lsaC* a été identifié dans 5 souches de phénotype résistant : une fois isolément et comme décrit ci-dessus 2 fois associé au gène *ermB* et 1 fois au gène *ermTR*. Pour une des souches avec un profil phénotypique résistant confirmé, aucun des quatre gènes recherchés n'a été mis en évidence.

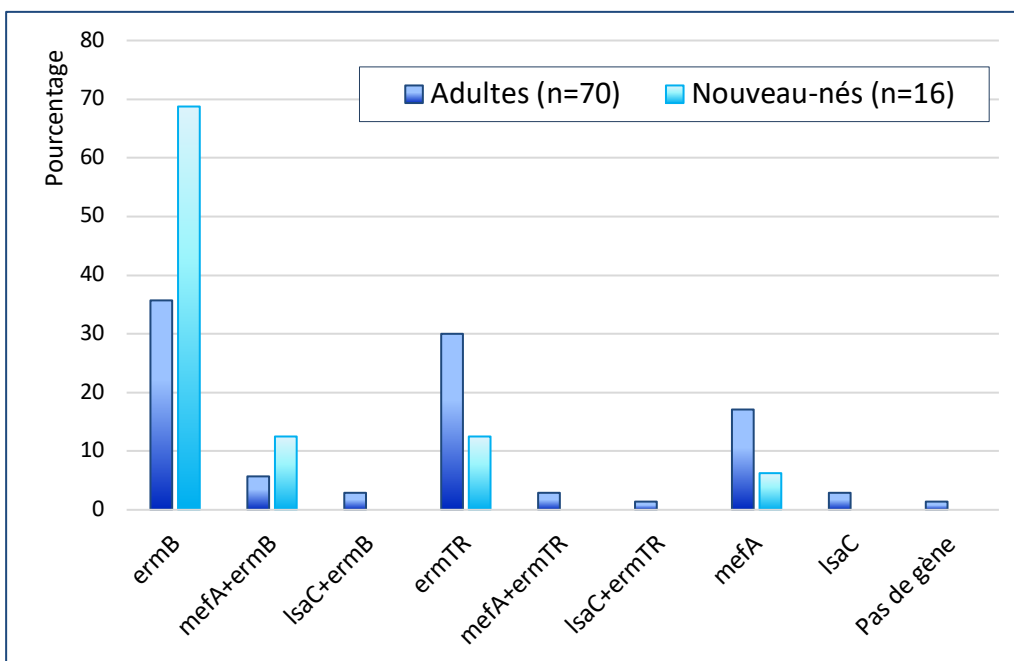


Figure 15: Distribution (en %) des gènes de résistance *ermB*, *ermTR*, *mefA* et *lsaC* parmi les souches de GBS résistantes aux macrolides/lincosamides isolées d'infections invasives chez l'adulte (n=70) et chez le nouveau-né (n= 16), en 2018.

Chez le nouveau-né, le gène *ermB* est présent dans plus de 80% des souches de phénotype résistant MLS (13/16) ; pour 2 des 13 souches, il est associé au gène *mefA*. Pour 4 autres souches, le gène *ermTR* a été mis en évidence. En plus des deux souches pour lesquelles le gène *mefA* a été mis en évidence associé au gène *ermB*, le gène *mefA* est le seul gène de résistance MLS mis en évidence pour une souche. La distribution des gènes de résistance au sein de cette population est représentée en **figure 15**.

6.6.3 Fluoroquinolones

La surveillance de la résistance aux fluoroquinolones montre la présence de quelques souches résistantes tout en restant peu fréquente. En 2018, 9/271 souches sont résistantes à la lévofloxacine et/ou la moxifloxacine, soit un taux de résistance de 3,32%. En 2016, l'incidence de la résistance aux fluoroquinolones était de 0,79% (2/252) pour la lévofloxacine et la moxifloxacine et de 5,05% (13/258) en 2017.

6.6.4 Tétracycline

Comme pour les souches étudiées par le CNR GBS depuis 1995, l'incidence de la résistance à la tétracycline en 2018 est élevée et de l'ordre de 82% (222/271) contre 88% en 2017, 98% en 2016 et 90% en 2015.

Cette résistance est depuis longtemps considérée comme une caractéristique des souches de GBS d'origine humaine.

6.7 Protéines de pili

Ces dernières années, 3 variants de protéines de pili ont été décrits chez *S. agalactiae*. Les pili encodés par pilus island 1 (PI-1) et pilus island 2a (PI-2a) sont localisés sur deux locus distincts. Plus tard, il a été démontré que PI-2a avait un allèle, pilus island 2b (PI-2b) qui présente la même organisation génétique mais qui diffère par sa séquence génique. Un vaccin contenant une combinaison des trois protéines de pili, à l'étude, pourrait être très intéressant pour induire une immunité efficace contre les infections invasives à *S. agalactiae*. C'est pourquoi, il est primordial de suivre la distribution des pili au sein de la population de GBS en Belgique. Les 208 souches de GBS provenant d'infections invasives chez l'adulte (y compris contexte obstétrical) et 57 souches provenant d'infections invasives chez le nouveau-né ont été caractérisées en termes de présence des gènes des différentes protéines de pili (**figure 16**).

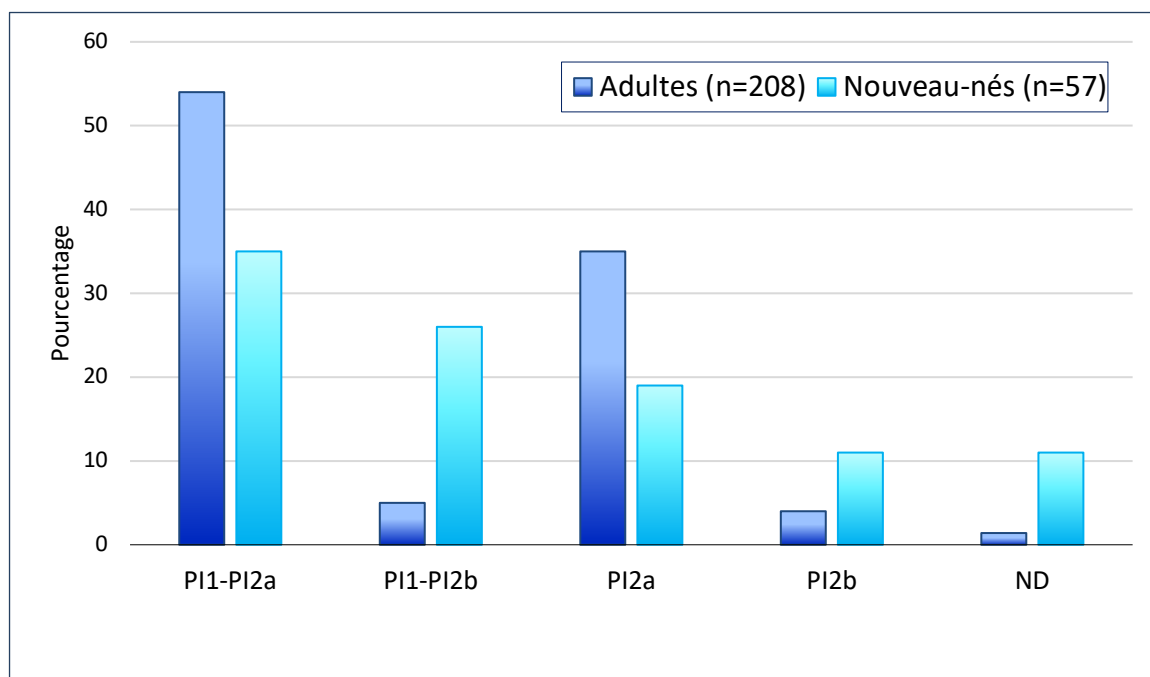


Figure 16: Distribution des gènes des protéines de pili PI1, PI2a et PI2b au sein des souches de GBS isolées d'infections invasives chez l'adulte et chez le nouveau-né, en 2018.

La recherche des gènes des protéines de pili au sein des souches de GBS de 2018 et l'étude de leur distribution, nous a permis de démontrer, chez les adultes, la prédominance du couple PI-1, PI-2a (n=113, 54% des cas), suivie par PI-2a seul (n=73, 35% des cas), du couple PI-1, PI-2b (n=11, 5% des cas) et finalement de PI-2b seul (n=8, 4% des cas). Cette distribution varie peu au cours des années. Au cours de l'année 2018, pour 3 souches, aucun de ces gènes de protéines de pili n'a pu être mis en évidence.

Pour les souches néonatales, on retrouve majoritairement le couple PI-1, PI-2a (20 /57, 35% des cas) et PI-1, PI-2b (15/57, 26 %), suivi de PI-2a seul (11/57, 19%) et PI-2b seul (5/57, 11%). Cette répartition est plus homogène que chez les adultes. En 2018, 5 souches isolées d'infections invasives chez le nouveau-né n'ont pu être caractérisées pour les protéines de pili.

Plus précisément au sein des souches de GBS isolées d'EOD, 13 souches étaient positives pour le couple PI-1, PI-2a, 5 pour le couple PI-1, PI-2b, 10 pour PI-2a, et 5 pour PI-2b. Pour les souches isolées de LOD, 7 souches sont positives pour le couple PI-1, PI-2a, 10 souches pour le couple PI-1, PI-2b, 1 souche pour PI-2a et 5 souches expriment PI-2b seul (voir **figure 16**). 4 souches de LOD et 1 souche de EOD n'ont pu être caractérisées pour les protéines de pili.

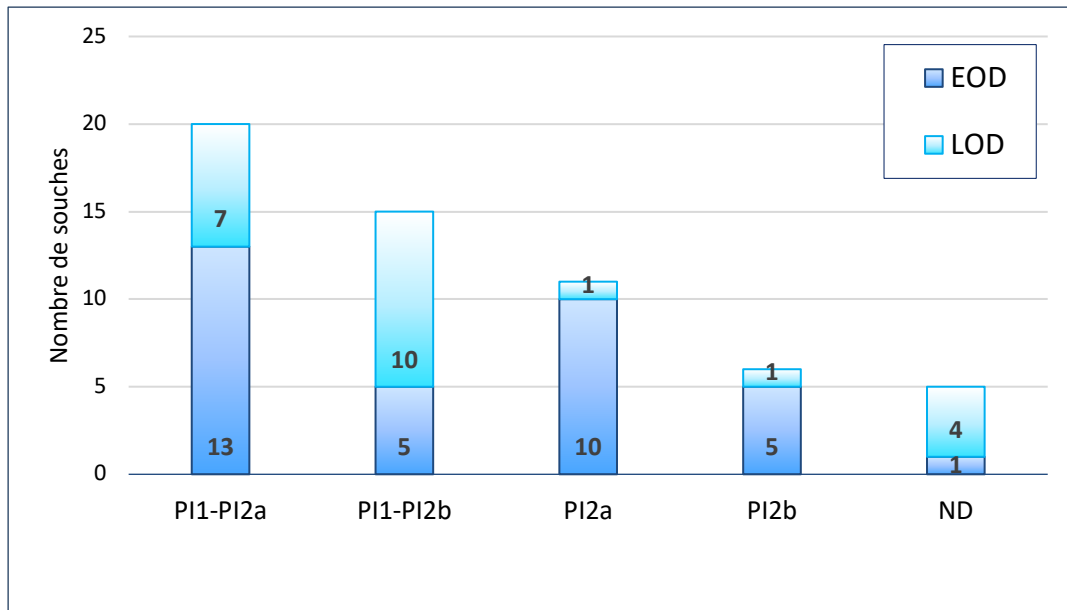


Figure 17: Distribution des gènes des protéines de pili des souches de GBS isolées d'infections invasives chez le nouveau-né et expertisées en 2018, soit 34 souches d'EOD et 23 souches de LOD.

La distribution des gènes de protéines de pili en fonction de la distribution des types capsulaires des souches responsables d'infection invasive chez l'adulte (y compris contexte obstétrical), est illustrée par la **figure 18**.

Cette distribution varie en fonction des types capsulaires considérés. Le profil PI-1, PI-2b se retrouve au sein des types III et Ia. Le profil PI-2a a une distribution hétérogène en fonction du type capsulaire ; il est majoritairement présent dans les souches de type Ia, exclusif dans les 3 souches de type IX et est présent dans 30% des souches de type V. Ce profil est aussi retrouvé de manière très minoritaire pour les souches de type Ib, II, III et IV. Le profil PI-1, PI-2a se répartit dans à peu près tous les types (à l'exception du VIII et IX) mais est majoritaire au sein des souches de types Ib, II, III, IV, V et VI. Le profil PI-2b se retrouve exclusivement au sein des souches de types III et VIII.

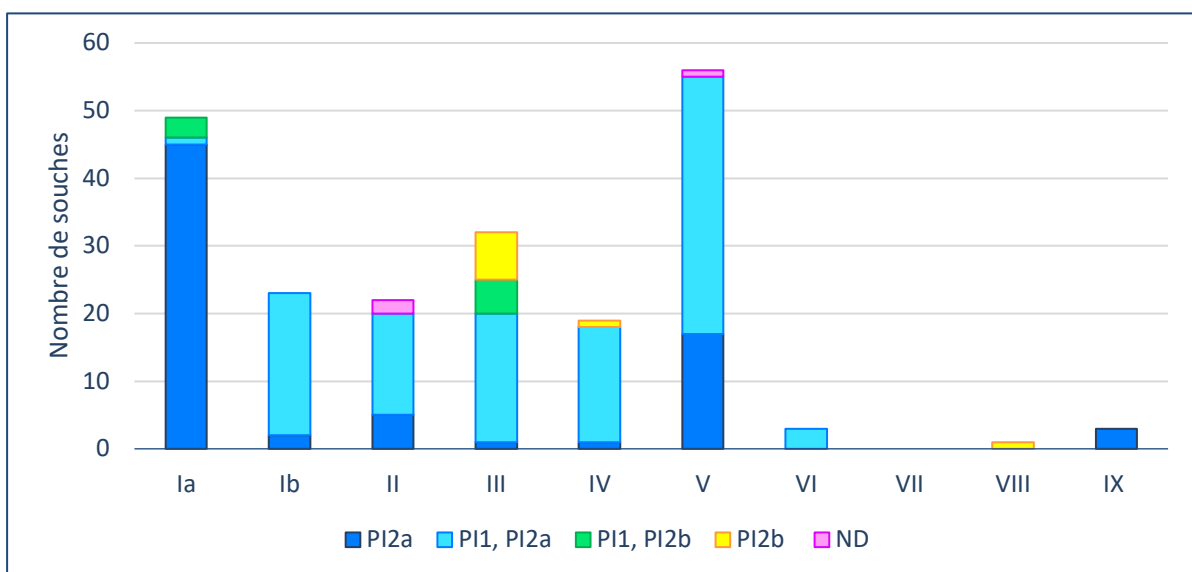


Figure 18: Distribution des gènes des protéines de pili des souches de GBS expertisées en 2018, responsables d'infection invasive chez l'adulte en fonction de la distribution des types capsulaires.

6.8 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux

Depuis plusieurs années, le CNR GBS belge a développé et entretient d'excellentes relations avec d'autres CNR européens

- Tout particulièrement avec le CNR Streptocoques français (Prof. Claire Poyart), l'institut de Santé Publique italien (Dr Roberta Creti) et le UK Health Security Agency GB (Prof. Androulla Efstratiou)
- Ainsi qu'avec les différents groupes du consortium européen DEVANI (Design of a Vaccine Against Neonatal Infections)
 - Berner R, Allemagne; Kunze M, Allemagne; Hufnagel M, Allemagne; Decheva A, Bulgarie ; Killian M, Danemark; Skov Sorensen U, Danemark; Rosa-Fraile M, Espagne; Rodriguez-Granger J, Espagne; Orefici G, Italie; Baldassarri L, Italie; Creti Roberta Italie; Telford J, Italie; Margarit Y Ros I, Italy; Krizova P, République Tchèque.

Nous poursuivons également des collaborations avec l'hôpital universitaire Bach Mai de Hanoi au Vietnam, avec l'université de Leon au Nicaragua (Dr. Teresa Aleman) et l'université de Montevideo / Institut de santé publique en Uruguay (Dr. Grisel Rodriguez Cuns).

7 Activités de Conseil, d'information, de formation

7.1 Activité auprès des autorités publiques

- **Conseil Supérieur de la Santé** : Présidence du groupe « Recommandations pour la prévention des infections périnatales à Streptocoques du groupe B »

7.2 Activités auprès des professionnels

- Conférences à de nombreuses réunions régionales, nationales et internationales : Formations continuées, Glem, séminaires, groupes de travail, congrès

7.3 Activité d'enseignement

L'épidémiologie, la physiopathologie, les méthodes de diagnostic, le traitement et les stratégies de prévention des infections à GBS sont enseignés dans différents programmes :

- Dans le cadre de l'enseignement de la microbiologie médicale en Bac3 médecine, Université de Liège
- Dans le cadre de l'enseignement de complément en microbiologie en Master 2 Sciences biomédicales option biologie clinique, Université de Liège
- Dans le cadre de l'enseignement de la microbiologie clinique aux assistants en spécialité Biologie clinique, Université de Liège
- Dans le cadre du certificat interuniversitaire en Infectiologie et microbiologie clinique, Université Libre de Bruxelles, Université Catholique de Louvain et Université de Liège

7.4 Conseils et expertises diverses

Le CNR est régulièrement consulté pour des demandes d'avis cliniques, de conseils thérapeutiques, ainsi que pour des demandes d'avis concernant les techniques de diagnostic et d'évaluation de la sensibilité aux agents antimicrobiens.

8 Recherche, communication et publication

8.1 Recherche

Nos principaux objectifs sont en relation directe avec une surveillance épidémiologique des infections invasives et de la colonisation, le développement de techniques en vue d'optimiser les méthodes de dépistage de colonisation, l'évaluation de stratégies de prévention, et en relation avec les caractéristiques bactériennes et de l'hôte jouant un rôle dans la colonisation.

8.2 Publications et communications (2018)

8.2.1 Publications

Dauby, N., Adler, C., Miendje Deyi, V., SACHELI, R., Busson, L., Chamekh, M., Marchant, A., Barlow, P., De Wit, S., Levy, J., MELIN, P., & Goetghebuer, T. (2018, November). Prevalence, Risk Factors, and Serotype Distribution of Group B Streptococcus Colonization in HIV-Infected Pregnant Women Living in Belgium: A Prospective Cohort Study. *Open Forum Infectious Diseases*. doi:10.1093/ofid/ofy320 <https://hdl.handle.net/2268/232597>

8.2.2 Communication orale/poster

SACHELI, R., MEEEX, C., DESCY, J., HUYNEN, P., HAYETTE, M.-P., & MELIN, P. (2018). 2015 Surveillance of Group B Streptococcus strains isolated from invasive diseases among adults in Belgium : bacteriological and clinical characteristics. In *Abstract book of 1st ISSAD 2018*. <https://hdl.handle.net/2268/223202>

MELIN, P., LECOMTE, L., SACHELI, R., DESCY, J., HUYNEN, P., HAYETTE, M.-P., & MEEEX, C. (2018). Group B Streptococcus neonatal invasive infections in Belgium, 2013-2016. In *Abstract book of 1st ISSAD 2018*. <https://hdl.handle.net/2268/223201>

SACHELI, R., MEEEX, C., DESCY, J., HUYNEN, P., HAYETTE, M.-P., & MELIN, P. (2018). Characterization of Group B Streptococcus strains isolated from neonatal invasive diseases in Belgium, 2015. In *abstract book of 1st ISSAD 2018*. <https://hdl.handle.net/2268/223200>

MEEEX, C., DEVEY, A., PHAM HONG, N., VAN GEET, M., DARFOUF, R., SACHELI, R., & MELIN, P. (2018, February). *Prevalence and capsular-polysaccharide type distribution of colonizing group B streptococci (GBS) isolated from rectovaginal samples in pregnant women in Hanoi, Vietnam*. Poster session presented at 1st International Symposium on Streptococcus agalactiae Disease, Cape Town, South Africa. <https://hdl.handle.net/2268/226883>

MEEEX, C., Defêche, J., DEVEY, A., DESCY, J., HAYETTE, M.-P., HUYNEN, P., SACHELI, R., & MELIN, P. (December 2018). *Dépistage intrapartum du Streptococcus agalactiae par PCR GenePOC GBS DS*. Poster session presented at 38ème Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI). <https://hdl.handle.net/2268/233536>

8.2.3 Conférences sur invitation de P.Melin

Cf. 8.2.4

8.2.4 Communication à des congrès

Melin, P. (23 April 2018). *Point of care testing of GBS, isn't it obvious?* Paper presented at ECCMID 2018 - EUROPEAN CONGRESS OF CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES, MADRID, Spain. <https://hdl.handle.net/2268/223058>

