

Nationaal Referentiecentrum *Streptococcus agalactiae*



Activiteitenrapport

2012

Dr. Sc. Rosalie Sacheli

Prof. Pierrette Melin



Dit rapport werd opgesteld in het kader van de activiteiten van de nationale referentiecentra gefinancierd door het RIZIV en onder de coördinatie van het WIV-ISP.



Inhoudstafel

1. Inleiding.....	4
2. Algemene en specifieke opdrachten van het NRC <i>S. agalactiae</i> (NRC GBS).....	4
3. Samenvatting van de activiteiten van het NRC GBS voor het jaar 2012.....	5
4. Kwaliteitsbeleid.....	5
4.1. Accreditering.....	5
4.2. Supranationale externe kwaliteitscontroles.....	5
5. Gebruikte analytische technieken en doelstellingen.....	6
6. Overzicht van de activiteiten van het NRC GBS: expertise en surveillance.....	7
6.1. Eindresultaten 2012.....	7
6.2. Stammen geïsoleerd bij invasieve neonatale infecties.....	7
6.2.1. Vroege neonatale infecties (EOD, early onset disease).....	8
6.2.2. Late neonatale infecties (LOD, late onset disease).....	9
6.2.3. Foetale infecties (mors in utero, miskraam).....	10
6.3. Stammen geïsoleerd bij vrouwen in een verloskundige context.....	10
6.4. GBS-stammen geïsoleerd bij invasieve infecties bij volwassenen.....	10
6.4.1. Leeftijd en geslacht van de patiënten met een invasieve GBS-infectie.....	11
6.4.2. Distributie van de GBS-serotypes bij invasieve infecties bij volwassenen.....	12
6.5. Surveillance van resistentie tegen antimicrobiële middelen.....	13
6.5.1. Penicilline en andere β -lactamantibiotica.....	13
6.5.2. Macroliden en clindamycine.....	14
6.5.3. Fluorochinolonen.....	16
6.5.4. Tetracyclines.....	16
6.6. Bijdrage tot de internationale surveillance netwerken.....	16
7. Advies-, informatie- en opleidingsactiviteiten.....	16
7.1. Activiteit bij de openbare overheden.....	16
7.2. Activiteiten bij gezondheidswerkers.....	16
7.3. Onderwijsactiviteit.....	16
8. Onderzoek, communicatie en publicatie.....	17
8.1. Onderzoek.....	17
8.2. Publicaties en communicaties (2011-2012).....	17
8.2.1. Publicaties.....	17
8.2.2. Conferenties op uitnodiging van P. Melin.....	18
8.2.3. Communicaties op congressen.....	18

1. Inleiding

Eén van de belangrijkste opdrachten van het nationale referentiecentrum (NRC) voor *Streptococcus agalactiae*, ook Lancefield groep B-streptokokken (GBS) genoemd, is bij te dragen tot de nationale epidemiologische surveillance van de evolutie en van de kenmerken van GBS-infecties bij de mens en vooral van ernstige vormen tijdens de perinatale periode. Die surveillance omvat ook onderzoek van de gevoeligheid van GBS voor antimicrobiële middelen.

In het kader van die activiteit worden alle laboratoria voor klinische biologie van België (en het Groothertogdom Luxemburg) uitgenodigd om alle culturen van GBS die een invasieve infectie veroorzaken bij de mens, naar het NRC te sturen samen met een specifieke fiche met daarop klinische informatie over de patiënt, informatie over de staalafname en in sommige gevallen over de kenmerken (virulentie, gevoeligheid voor antimicrobiële middelen) van de geïsoleerde stam.

In 2012 hebben 40 laboratoria verspreid over het hele land in het totaal 154 stammen naar het NRC GBS gestuurd. Van 149 stammen kon worden bevestigd dat het inderdaad GBS waren. Die stammen werden hoofdzakelijk teruggevonden in bloed, cerebrospinaal vocht (CSV) of andere plaatsen die normaal steriel zijn.

2. Algemene en specifieke opdrachten van het NRC *S. agalactiae* (NRC GBS)

- Expertise en wetenschappelijke ervaring ontwikkelen inzake GBS-infecties, preventieve strategieën, detectie en identificatie van GBS, diagnostische methoden en hiervan bewijzen leveren op basis van wetenschappelijke publicaties.
- Erkende laboratoria technisch ondersteunen en adviseren
 - informatie geven over de klinische, microbiologische en epidemiologische criteria voor analyse van GBS-stammen en de wijze van verzending naar het NRC
 - informatie geven over nieuwe, relevante technieken voor detectie in cultuur, met een snelle test, voor identificatie
 - informatie geven over nieuwe mechanismen van resistentie tegen relevante antimicrobiële middelen
 - hen op de hoogte houden van de inhoud en updates van de richtlijnen voor de preventie van perinatale infecties
- De identificatie van de stammen die naar het NRC worden verstuurd, bevestigen en de stammen karakteriseren voor epidemiologische doeleinden: typering van het kapsel, typering van de pili, bepaling van de gevoeligheid voor antibiotica, bepaling van het resistentiemechanisme
- Klinische en epidemiologische gegevens verzamelen over aangegeven gevallen van invasieve infectie
- Deelname aan de nationale surveillance van de gevallen van ernstige neonatale infectie
- In samenwerking met het WIV-ISP de peillaboratoria, maar ook alle erkende laboratoria ertoe aanmoedigen om stammen voor analyse te versturen met het oog op een goede geografische representativiteit
- Actief bijdragen tot de ontwikkeling, de verspreiding en de evaluatie van strategieën ter preventie van perinatale GBS-infecties
- Innovaties op het gebied van GBS volgen, deelname aan de ontwikkeling en validatie van nieuwe klassieke of moleculaire technieken voor identificatie en typering ontwikkelen en valideren
- De evolutie van de ontwikkeling van vaccins volgen en advies geven aan de gezondheidsautoriteiten

- Het bewijs leveren (BELAC-accreditering) van toepassing van de kwaliteitsvereisten volgens de ISO 15189-normen voor de referentieactiviteiten
- Actief deelnemen aan internationale surveillancenetwerken en internationale onderzoeksprojecten betreffende GBS
- De wetenschappelijke resultaten die ter zake worden behaald, verspreiden door publicaties, communicaties op wetenschappelijke congressen of bijeenkomsten, bijscholing en bijdragen aan de richtlijnen voor het voorschrijven van antibiotica
- Een reeks stammen bewaren die representatief zijn voor invasieve infectie, kolonisatie, speciale types, speciale resistentie tegen antibiotica.

3. *Samenvatting van de activiteiten van het NRC GBS voor het jaar 2012*

Naast de surveillance van invasieve GBS-infecties bij pasgeborenen en volwassenen omvatten de activiteiten van het NRC tijdens het jaar 2012:

- ontwikkeling en versterking van technieken voor moleculaire identificatie van de mechanismen van resistentie tegen bepaalde antibiotica en inzonderheid tegen erytromycine en clindamycine
- ontwikkeling en onderhoud van het kwaliteitssysteem volgens de ISO 15189-normen met het oog op BELAC-accreditering
- ontwikkeling van Glms, het computersysteem van het laboratorium, om alle activiteiten van het NRC GBS te kunnen traceren
- op touw zetten van een studie (die in 2013 werd voortgezet) naar prenatale vaginale kolonisatie door GBS om de circulerende stammen te karakteriseren: distributie van de kapselserotypes en de pili en bewaking van het verloop van de resistentie tegen antibiotica
- verdere analyse van de resultaten die werden verkregen tijdens de deelname van het NRC GBS aan het Europese DEVANI-project (Design of a vaccine to immunize neonates against GBS infections through a durable maternal immune response), FP7 HEALTH-F5-2007-200481.

4. *Kwaliteitsbeleid*

Het NRC GBS maakt deel uit van de dienst klinische microbiologie van het CHU van Luik. Die dienst beschikt over een kwaliteitssysteem dat voldoet aan de vereisten voor erkenning van laboratoria voor klinische biologie, waaronder deelname aan de nationale kwaliteitscontrole door het WIV.

4.1. *Accreditering*

De laboratoria voor klinische biologie van het CHU van Luik beschikken al jaren over een kwaliteitssysteem. De accreditering is geëvolueerd van de 17025-norm naar de 15189-norm. In het kader van het kwaliteitsbeleid op de dienst microbiologie werden specifiek bepaalde sectoren geaccrediteerd zoals de moleculaire microbiologie. We hebben ook het nodige gedaan om een accreditering te verkrijgen voor de activiteiten van het NRC GBS: cultuur, identificatiemethoden, typering van de GBS en methoden voor bepaling van de gevoeligheid van GBS voor antimicrobiële middelen.

Opdat het NRC zou beantwoorden aan de ISO 15189-norm, hebben we nieuwe procedures opgesteld voor elke analyse, hebben we valideringsdossiers geformaliseerd voor alle technieken die al worden toegepast of die in ontwikkeling zijn, en hebben we een stand van zaken opgemaakt van de bestaande procedures en schema's om zwakke punten bloot te leggen en die te corrigeren. Ook hebben we de nodige maatregelen genomen om de lokalen en toestellen die worden gebruikt voor de activiteiten van het NRC, aan te passen en organiseren we interne audits. Het kwaliteitssysteem

van het NRC GBS werd ingevoerd tussen 2011 en midden 2012. De accrediteringsaudit op grond waarvan het BELAC-certificaat werd toegekend, heeft plaatsgevonden in mei 2013.

4.2. Supranationale externe kwaliteitscontroles

Het NRC GBS heeft bijgedragen tot het opstarten van een externe kwaliteitscontrole in een Europees project en heeft meerdere malen deelgenomen aan die externe controles. De resultaten van die controles werden gepubliceerd (Afshar B. et al, 2011). Het NRC GBS organiseert ook jaarlijks ringtests tussen laboratoria met andere Europese NRC GBS om de analyses te valideren waarvoor er geen externe controle bestaat, en neemt daar ook aan deel. Die controles betreffen de identificatietechnieken, de methoden voor fenotypische en genotypische typering van de kapselpolysachariden en bepaling van de gevoeligheid voor antimicrobiële middelen.

5. Gebruikte analytische technieken en doelstellingen

Beschrijving van de tests	Tests aangevraagd door erkende laboratoria			Tests uitgevoerd voor surveillance		Tests uitgevoerd om technieken te valideren
	Bevestiging identificatie	Kapseltype-ring (CPS)	Bevestiging MIC Penicilline	Microbiële en epidemiologische surveillance (CPS, pili, antibiogram en virulentiefactoren)		
				GBS geïsoleerd bij invasieve infectie	GBS geïsoleerd bij gezonde dragers (1)	
1 - CULTUUR/subcultuur (2)	x	x	x	x	x	x
2 – IDENTIFICATIETESTS, alleen gebruikt of in combinatie (en controle van de identificatie van de ontvangen stammen) (2) a - Biochemische tests b -Immunologische te detectie van het groep B-antigeen c - MALDI-TOF-massaspectrometrie	x	x	x	x	x	x
3 – BEPALING VAN HET KAPSELTYPE (CPS) a - Bepaling van het kapselserotype (strep B latex, SSI, Denmark) b - Genotypering van het kapsel (PCR)	x (3) x (3)	x x		x (3) x (3)	x x	x x
4 – BEPALING VAN DE GEVOELIGHEID VOOR ANTIBIOTICA a - Bepaling van de MIC b - Bepaling van het MSL-fenotype c - Bepaling van het MLS-genotype (PCR)	(x)		x	x x x	x x x	(x) (4) (x) (4) (x) (4)
5 - PCR GENEN die coderen voor de EIWITTEN VAN DE PILI				x	x	
6 - PCR GENEN die coderen voor ANDERE OPPERVLAKTE- EIWITTEN (non-pili)				x	x	

- (1) Periodiek voeren we epidemiologische onderzoeken uit naar kolonisatie van gezonde dragers door GBS. We nodigen de laboratoria uit om deel te nemen aan specifieke studies met instructies over de selectiecriteria, de wijze van afnemen, het transport en de bewaring van de monsters.
- (2) Alle stammen die naar het NRC worden gestuurd, worden opnieuw in cultuur gebracht (subcultuur) om hun identiteit te controleren en om een reïncultuur te verkrijgen.
- (3) Kapseltypering wordt uitgevoerd op alle invasieve stammen. Het resultaat wordt doorgegeven aan het aanvragende laboratorium en de resultaten worden gebruikt voor latere analyses van epidemiologische surveillancestudies.
- (4) De gevoeligheid voor antimicrobiële middelen kan worden bepaald conform het studieprotocol.

6. Overzicht van de activiteiten van het NRC GBS: expertise en surveillance

Bij ontvangst brengen we de stammen systematisch in cultuur, controleren we de identificatie en bepalen we het kapselserotype. Sommige stammen kunnen niet worden getypeerd. We bepalen de gevoeligheid voor antimicrobiële middelen. De resultaten worden verstuurd naar het laboratorium dat de stam heeft verstuurd. De stammen worden in magere melk ingevroren bij -80 °C. De temperatuur van de diepvriezers wordt gecontroleerd door een computer. Alle gegevens worden opgeslagen in het computersysteem van de laboratoria en het back-upsysteem van het ziekenhuis. Het hele jaar door voeren we ook gegroepeerde analyses uit voor genotypering en karakterisering van de stammen en evaluatie van de mechanismen van resistentie tegen antimicrobiële middelen.

6.1. Eindresultaten 2012

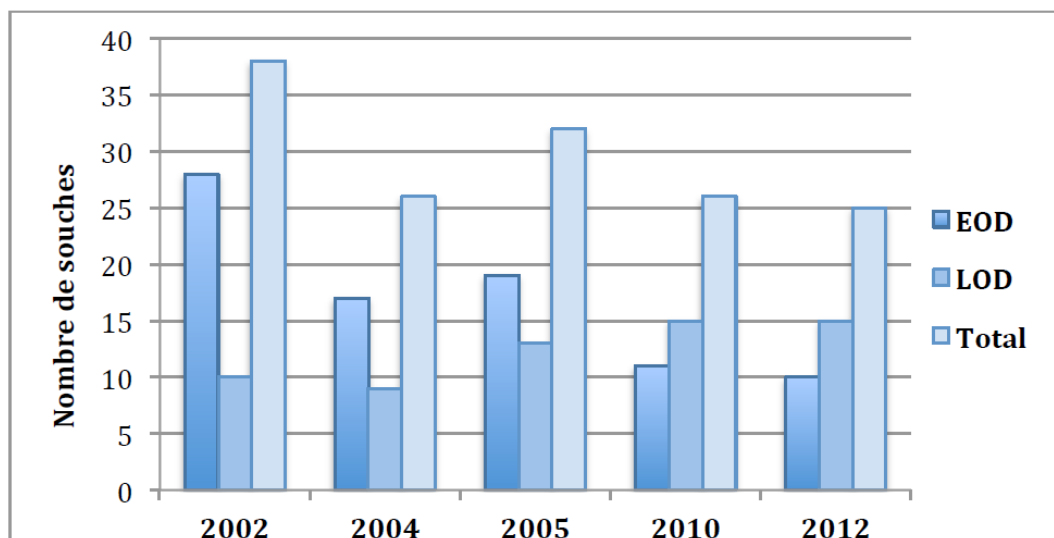
In 2012 hebben 40 laboratoria verspreid over het hele land 154 stammen naar het NRC GBS gestuurd. Het aantal laboratoria dat stammen verstuurt, was sinds een tiental jaar stabiel gebleven, maar is recentelijk met 10-15% gestegen. 149 stammen bleken inderdaad GBS te zijn. 143 stammen waren afkomstig van invasieve infecties. Die stammen werden geïsoleerd in bloed, cerebrospinaal vocht (CSV) of andere plaatsen die normaal steriel zijn. Voor dit rapport hebben we de stammen gegroepeerd volgens de patiëntencategorie geïnfecteerd met GBS.

6.2. Stammen geïsoleerd bij invasieve neonatale infecties

In 2012 werden 25 stammen (17,48% van het totale aantal GBS-stammen die we in dat jaar hebben ontvangen) geïsoleerd uit bloed of CSV van pasgeborenen met een bewezen invasieve infectie: 10 gevallen van vroege infectie (≤ 6 dagen) en 15 gevallen van late infecties (na de eerste levensweek).

Het aantal stammen afkomstig van late infecties dat het NRC GBS jaarlijks controleert, is sinds minstens tien jaar vrij stabiel gebleven. Sinds de implementering van strategieën ter preventie van vroege infecties is het aantal stammen afkomstig van vroege infecties dat wij moeten onderzoeken, daarentegen gedaald (**Figuur 1**). De verhouding tussen het aantal stammen geïsoleerd bij een vroege infectie en het aantal stammen geïsoleerd bij een late infectie, bedroeg 2,8 in 2002 en is gestaag gedaald tot 0,7 in 2012. Die evolutie zal zich de volgende jaren allicht doorzetten.

Aangezien de stammen op vrijwillige basis worden verstuurd en aangezien de aangifte van invasieve neonatale GBS-infecties niet verplicht is, kunnen we moeilijk precieze informatie geven over de incidentie en zou het best kunnen dat de observaties vertekend zijn. Eén van de objectieven van het NRC in de komende jaren is om exhaustieve gegevens te verkrijgen voor welbepaalde populaties om de werkzaamheid van de preventieve strategieën te kunnen evalueren.



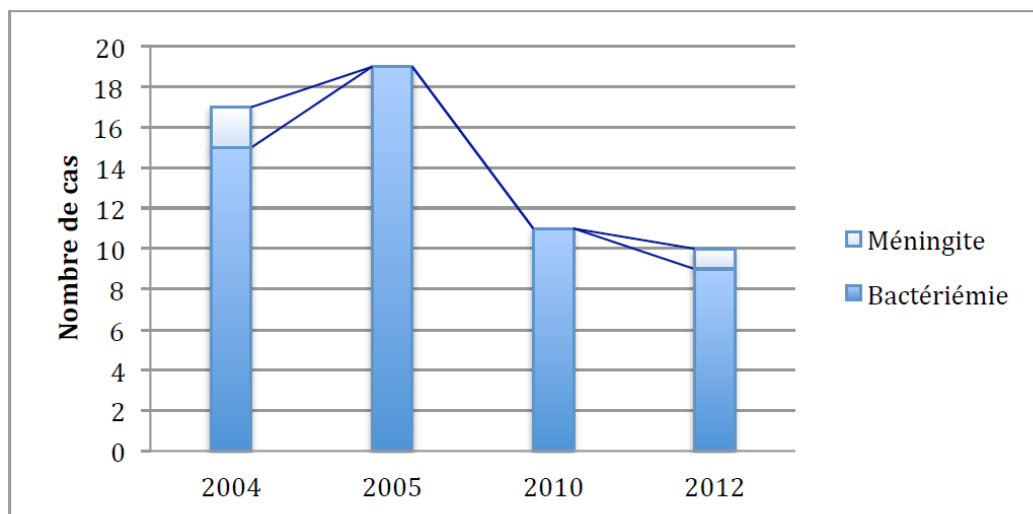
Figuur 1. Distributie van de GBS-stammen die werden geïsoleerd bij een neonatale infectie, volgens type infectie: vroege (EOD) of late (LOD).

We beschikken niet altijd over gegevens over de evolutie van de ziekte en de eventuele sterfte. Algemeen genomen bedroeg de sterfte bij neonatale GBS-infecties minstens 4%.

6.2.1. Vroege neonatale infecties (EOD, Early Onset Disease)

In 2012 hebben we de GBS-stammen gekarakteriseerd die werden geïsoleerd bij 10 gevallen van vroege neonatale infectie. Alle stammen werden geïsoleerd uit bloed; één stam werd geïsoleerd uit bloed en CSV. De pasgeborene die een meningitis had ontwikkeld, is gestorven.

Sinds 2004 is het aantal gevallen van vroege infectie dat aan het NRC GBS wordt gemeld, gedaald, hoewel het aantal deelnemende laboratoria gestegen is. Het percentage gevallen van vroege infectie met meningitis varieert vrij weinig, van 0 tot 11% (**Figuur 2**).



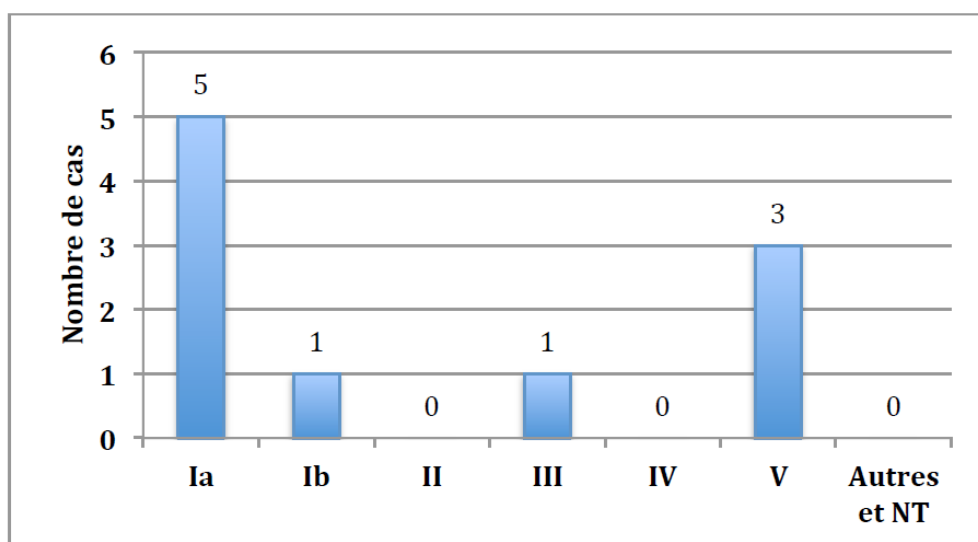
Figuur 2. Distributie van het jaarlijks aantal gevallen van vroege neonatale GBS-infectie met of zonder meningitis in 2004, 2005, 2010 en 2012.

Een EOD wordt gekenmerkt door snel opkomende tekenen van infectie. In minstens 70% van de gevallen is de infectie opgetreden tijdens de eerste 24 uur van het leven.

De M/V-verhouding van EOD bedroeg 1,5.

Figuur 3 toont de distributie van de kapselserotypes van de stammen die werden geïsoleerd bij een vroege infectie. Frequentie (in dalende volgorde) in 2012: het frequentste serotype was Ia (50% van de gevallen, n = 5), gevolgd door serotype V (30% van de stammen, n = 3), serotype III (8,33% van de stammen, n = 1) en Ib (8,33% van de stammen, n = 1). De andere serotypes werden niet teruggevonden bij de stammen die in 2012 werden geïsoleerd bij een vroege infectie. Zoals eerder al gerapporteerd, brachten alle stammen die een vroege infectie hadden veroorzaakt, een kapsel tot expressie dat door agglutinatie kon worden geïdentificeerd.

Naast die tien bewezen gevallen van EOD werden ook de stammen van 2 waarschijnlijke gevallen van EOD geanalyseerd. Eén van die gevallen was een baby met een GBS-infectie die 'in utero' was gestorven.

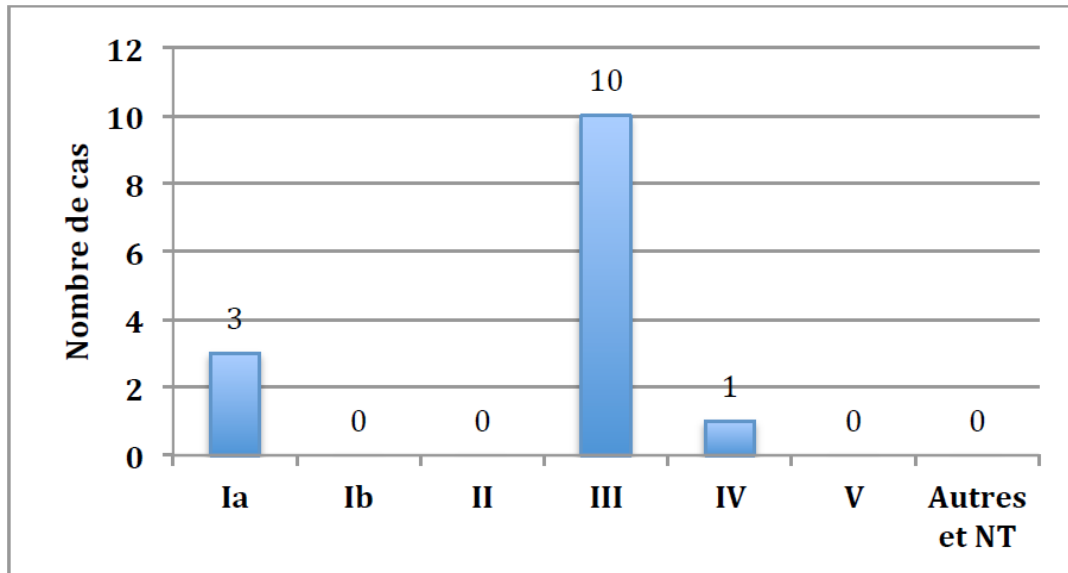


Figuur 3. Distributie van de kapselserotypes van GBS geïsoleerd bij een vroege neonatale infectie (EOD), in 2012.

6.2.2. Late neonatale infecties (LOD, Late Onset Disease)

In 2012 hebben we de GBS-stammen gekarakteriseerd die werden geïsoleerd in hemoculturen of culturen van CSV bij 15 gevallen van late neonatale infectie. Vier van de 15 vertoonden een meningitis. De gemiddelde leeftijd waarop de infectie was opgetreden, was 43 dagen (spreiding 15-98 dagen). Eén van de gevallen van LOD was een recidief bij een baby die een EOD had ontwikkeld bij de geboorte. De man-vrouwverhouding in die leeftijdsgroep was 1,28.

Figuur 4 toont de distributie van de kapselserotypes van de stammen die werden geïsoleerd bij een late infectie. Serotype III was veruit het frequentste serotype (73,5% van de gevallen, n = 10), gevolgd door serotype Ia (20% van de gevallen, n = 3) en serotype IV (6,7% van de gevallen, n = 1).



Figuur 4. Distributie van de kapselserotypes van GBS geïsoleerd bij een late neonatale infectie (LOD), in 2012.

6.2.3. Foetale infecties (*mors in utero*, miskraam)

In 2012 hebben we één GBS-stam onderzocht geïsoleerd bij een geval van chorioamnionitis met afsterven van de foetus na 26 weken zwangerschap, één GBS-stam geïsoleerd bij een ander geval van *mors in utero* op een zwangerschapsleeftijd van 26 weken (zonder notie van chorioamnionitis) en één stam die werd geïsoleerd bij een miskraam na 22 weken zwangerschap.

Die gevallen zijn zeldzaam, maar toch is het belangrijk alle gevallen van miskraam of *mors in utero* die zouden kunnen te maken hebben met een GBS-infectie, aan het NRC te melden. In de toekomst zou vaccinatie die gevallen kunnen voorkomen en de evolutie van de incidentie zou een idee kunnen geven van de werkzaamheid van het vaccin.

6.3. Stammen geïsoleerd bij vrouwen in een verloskundige context

In 2012 heeft het NRC GBS de stammen onderzocht afkomstig van een geval van bacteriëmie tijdens de zwangerschap en een geval van postpartum bacteriëmie (retentie van de placenta), alsook 4 GBS-stammen die werden geïsoleerd uit geïnfecteerde placenta's, en één stam uit navelstrengbloed. Serotype V en serotype Ia werden beide 2-maal teruggevonden en serotype II en III telkens één keer. Eén stam hebben we niet kunnen typeren.

6.4. GBS-stammen geïsoleerd bij invasieve infecties bij volwassenen

In 2012 heeft het NRC GBS 111 GBS-stammen geanalyseerd die invasieve infecties hebben veroorzaakt bij volwassenen buiten het kader van de zwangerschap.

De onderstaande tabel toont de distributie van de klinische verschijnselen van de invasieve GBS-infecties. De stammen werden vooral geïsoleerd in hemoculturen.

Klinische verschijnselen	Aantal (%) gevallen in 2012 (n = 111)
Geïsoleerde bacteriëmie	51 (46,08)
Plaatselijke infectie (met of zonder bacteriëmie):	
<ul style="list-style-type: none"> • Huid/weke delen/bot en gewrichten <ul style="list-style-type: none"> ○ Osteïtis/osteomyelitis ○ Septische artritis ○ Huid- en wekedelen-infecties (erysipelas, cellulitis) ○ Andere (osteo-articulaire origine) • Luchtweginfecties • Meningitis • Urineweginfectie • Endocarditis • Andere 	18 (16,3) 3 (2,7) 2 (1,8) 10 (9) 3 (2,7) 5 (4,5) 1 (0,9) 2 (1,8) 2 (1,8) 2 (1,8)
Niet gespecificeerd	25 (22,52)

Tabel. Distributie van de klinische verschijnselen van GBS-infecties bij volwassenen buiten het kader van een zwangerschap in 2012.

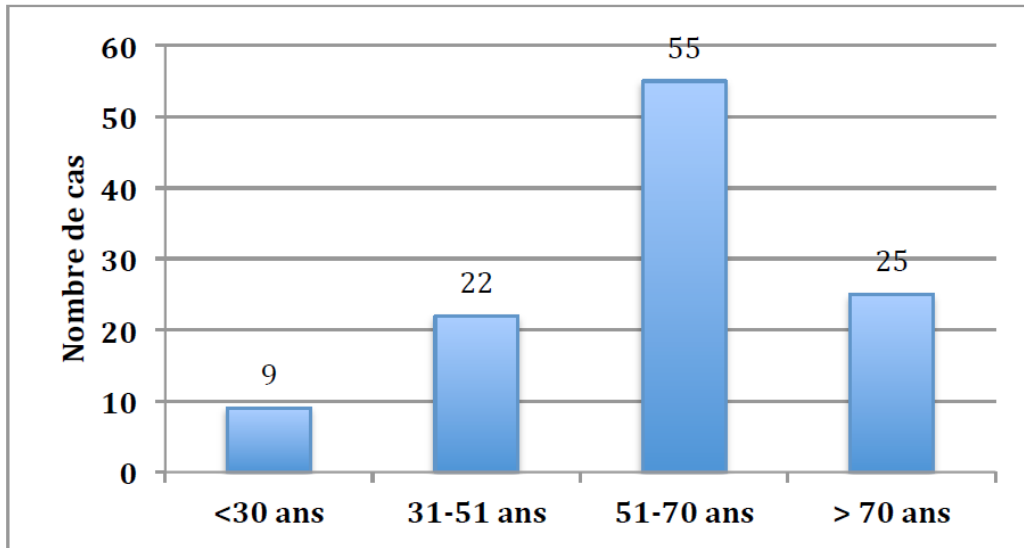
In 22,5% van de gevallen werden de diagnose en/of de klinische verschijnselen niet vermeld. Dat is veel. Daarom zouden we willen wijzen op het cruciale belang om het aanvraagformulier dat het NRC ter beschikking stelt, in te vullen. Dat aanvraagformulier kan worden aangevraagd bij het WIV-ISP of het NRC GBS of kan worden gedownload op de website van het WIV-ISP.

6.4.1. Leeftijd en geslacht van de patiënten met een invasieve GBS-infectie

In 2012 werden invasieve GBS-infecties vooral waargenomen bij patiënten van 50-70 jaar (zie **Figuur 5**).

Van de volwassenen vertoonde 32,8% predisponerende factoren zoals een immunodpressie, kanker, cirrose, diabetes en nierinsufficiëntie.

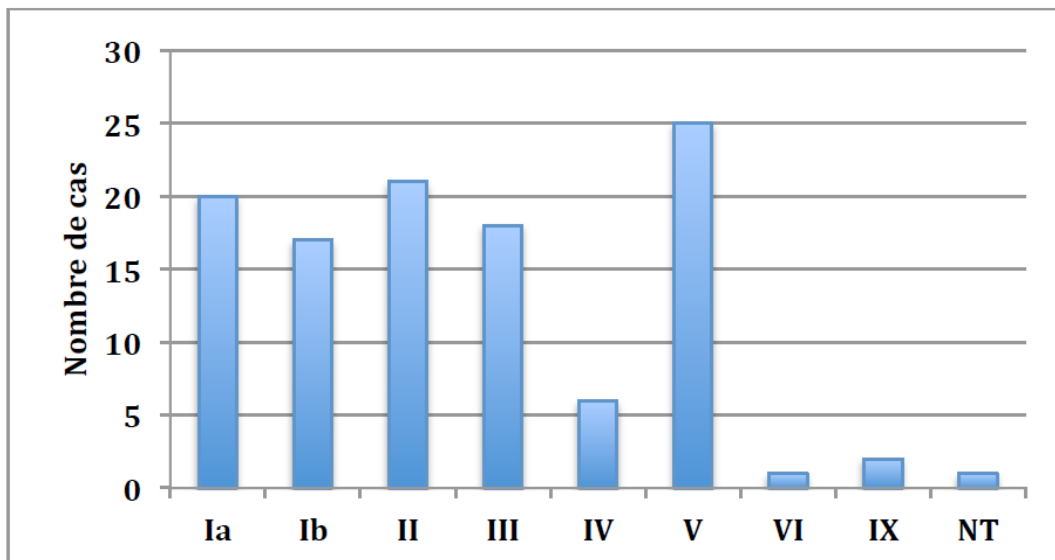
De man/vrouw-verhouding was 1,31.



Figuur 5. Distributie van het aantal invasieve GBS-infecties bij volwassenen volgens leeftijd

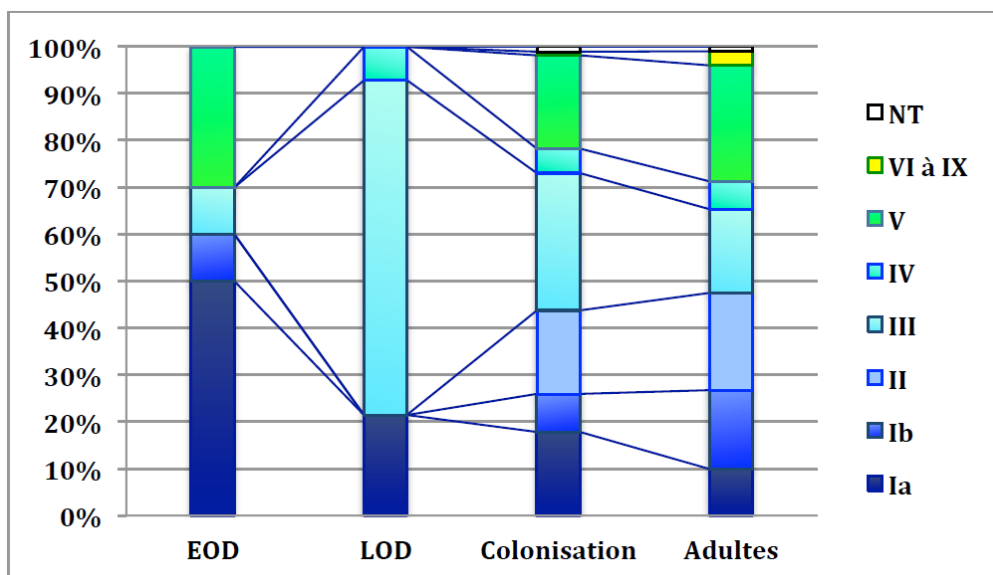
6.4.2. Distributie van de GBS-serotypes bij invasieve infecties bij volwassenen

De distributie van de GBS-serotypes bij infecties bij volwassenen verschilt sterk van die bij EOD en LOD bij pasgeborenen. In 2012 was serotype V het frequentste serotype (22,52%, n = 25), gevolgd door serotype II (18,34% van de gevallen, n = 21), Ia (18,01%, n = 20), III (16,39%, n = 18), Ib (15,3%, n = 17) en IV (5,4%, n = 6). Serotype IX en serotype VI waren goed voor respectievelijk 1,4% (n = 2) en 0,8% (n = 1) van de gevallen (**Figuur 6**). Na analyse van het fenotype en met moleculaire biologie kon 1 stam niet worden getypeerd.



Figuur 6. Distributie van de kapselserotypes bij 111 invasieve GBS-infecties bij volwassenen in 2012.

Figuur 7 vergelijkt de distributie van de serotypes bij invasieve GBS-infecties volgens de leeftijdsgroep. De distributie van de serotypes van de stammen die in vaginale en rectale monsters werden geïsoleerd bij zwangere vrouwen in België, is vrij vergelijkbaar met de distributie van de serotypes die worden aangetroffen bij invasieve infecties bij volwassenen. De figuur toont duidelijk dat serotype III het frequentste serotype is bij late neonatale infecties (LOD), terwijl Ia in 2012 het frequentste serotype was bij vroege neonatale infecties. De serotypes VI tot IX komen zeer weinig voor in België.



Figuur 7. Distributie van de kapselserotypes bij invasieve GBS-infecties (per leeftijdsgroep) en bij genito-rectale kolonisatie, in 2012.

6.5. Surveillance van de resistentie tegen antimicrobiële middelen

We hebben meerdere technieken gecombineerd om de minimale inhiberende concentraties (MIC) ten opzichte van antimicrobiële middelen te bepalen en om de mechanismen van resistentie tegen de groep van macroliden, lincosamiden en streptogramines (MLS) te analyseren.

De MIC ten opzichte van penicilline, ampicilline, cefazoline, cefotaxim, erytromycine, clindamycine, levofloxacin, moxifloxacin, telitromycine en tetracycline werd bepaald met een microdilutiemethode Sensititre die gebruik maakt van microplaten waarvan de samenstelling specifiek is voor het NRC GBS. Als alternatief hebben we af en toe de Etest methode (agardiffusie) gebruikt. De resultaten werden geïnterpreteerd conform de EUCAST-criteria.

Het fenotype van resistentie tegen MLS werd bepaald met een dubbele diffusietest (schijfjes of Etests) op agar, de Dtest. Alle stammen die resistent waren tegen minstens één antibioticum van de MLS-groep, werden geanalyseerd met PCR om resistentiegenen op te sporen en te identificeren.

6.5.1. Penicilline en andere β -lactamantibiotica

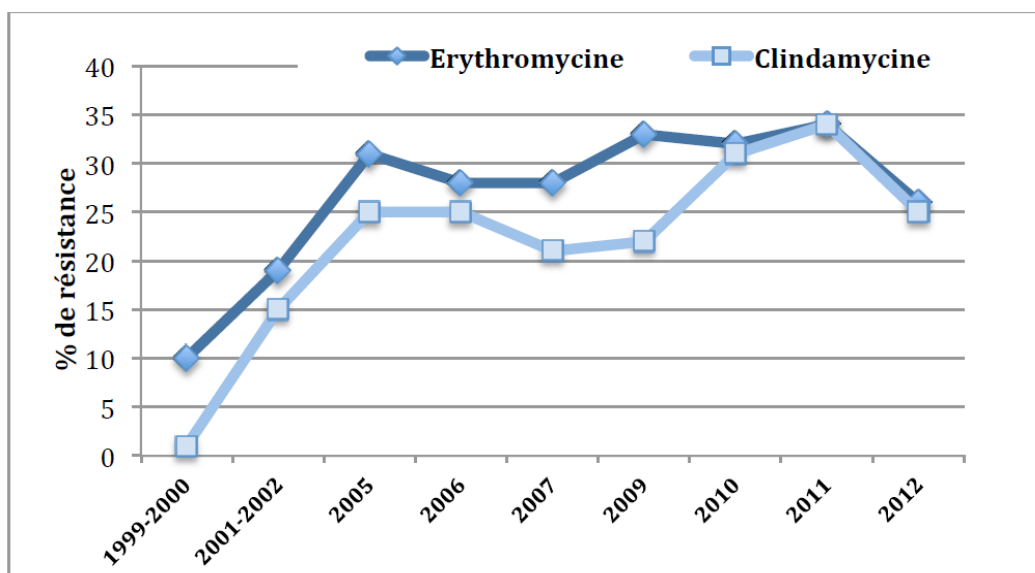
Alle stammen die het NRC GBS in 2012 heeft onderzocht, waren gevoelig voor penicilline en andere β -lactamantibiotica. Dat was overigens zo voor alle stammen die sinds 1995 werden getest. Penicilline is nog altijd het referentieantibioticum bij de behandeling en de profylaxe van GBS-infecties. Toch werden enkele gevallen met een verminderde gevoeligheid voor penicilline beschreven, eerst in Japan en daarna ook in de Verenigde Staten. Om die stammen snel te

identificeren, raden het CLSI en EUCAST aan het antibiogram altijd opnieuw te bepalen als een stam niet gevoelig blijkt te zijn, en dat resultaat altijd te laten bevestigen door een referentielaboratorium.

In de klinische praktijk kunnen we ervan uitgaan dat als een GBS gevoelig is voor penicilline, die ook gevoelig zal zijn voor andere β -lactamantibiotica waaronder cefalosporines en carbapenemantibiotica.

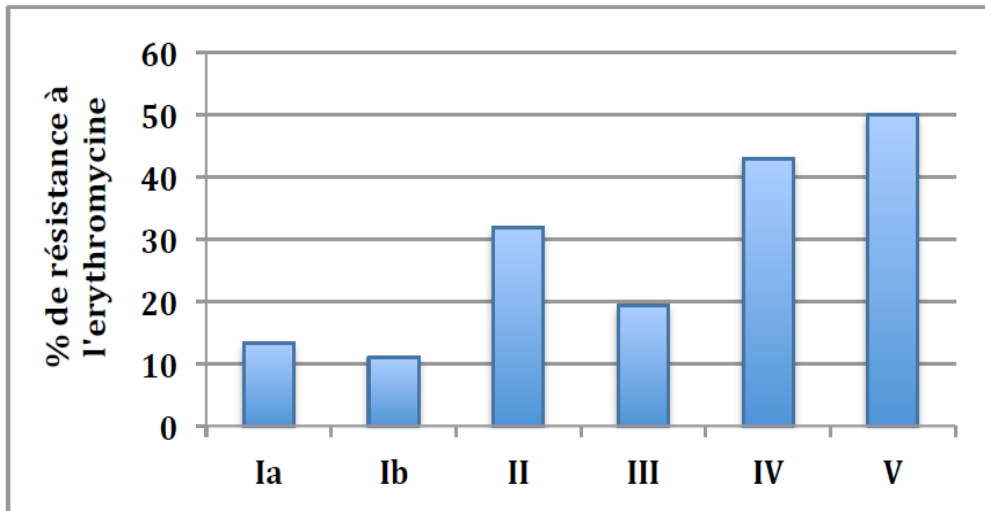
6.5.2. Macroliden en clindamycine

De hoge incidentie van resistentie van GBS tegen erytromycine (26%) en clindamycine (24,5%) werd in 2012 bevestigd. In vergelijking met de vorige jaren is de resistentie tegen erytromycine en clindamycine licht gedaald (**Figuur 8**), maar het percentage resistentie blijft hoog en hoger dan voor het jaar 2000. De resistentie van de stammen die invasieve infecties veroorzaken bij volwassenen, is bijna vergelijkbaar met die van de stammen die worden teruggevonden bij pasgeborenen. De incidentie is echter altijd hoger bij volwassenen.



Figuur 8. Evolutie van de incidentie van resistentie van GBS tegen erytromycine en clindamycine van 1999 tot 2012

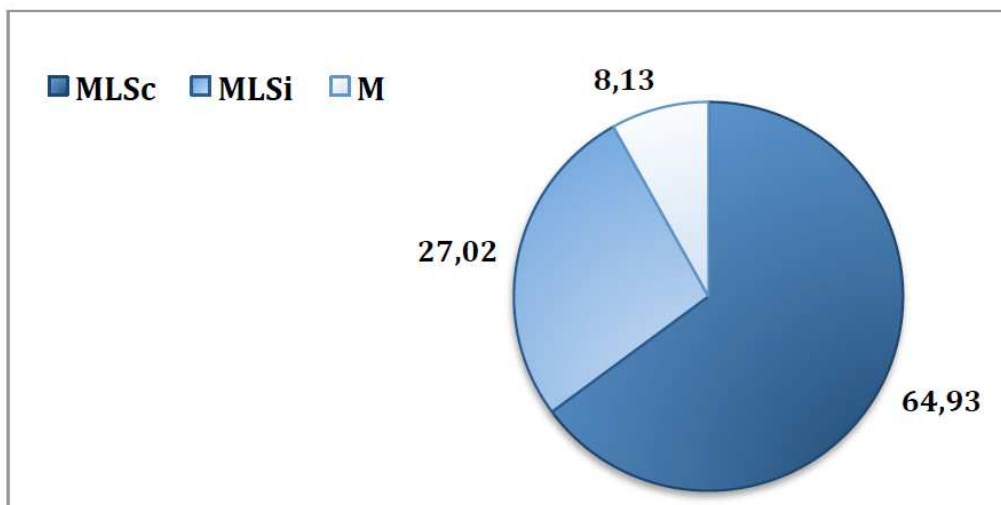
De incidentie van resistentie tegen erytromycine vertoont geen homogene verspreiding bij de verschillende serotypes (**Figuur 9**). De incidentie is het hoogst bij de serotypes IV (43%) en V (50%).



Figuur 9. Incidentie van de resistentie (%) van GBS tegen erytromycine volgens serotype.

De meeste stammen vertonen een MLS-fenotype, d.w.z. een kruisresistentie tegen macroliden, lincosamiden en streptogramines. We onderscheiden het constitutieve MLS-fenotype (resistentie tegen erytromycine én clindamycine, cMLS) en het induceerbare MLS-fenotype (resistentie tegen erytromycine en tegen clindamycine enkel in vitro in aanwezigheid van erytromycine, iMLS), respectievelijk bij 64,93% en 27,02% van de erytromycineresistente GBS-stammen. Een minderheid van de stammen vertoont een M-fenotype (alleen resistentie tegen erytromycine en gevoelig voor clindamycine). In 2012 is in België een nieuw fenotype opgedoken dat ook al werd gezien in Azië en Nieuw-Zeeland (Malbruny et al., 2004). Het gaat om het L-fenotype, dat resistent is tegen lincosamiden, maar niet tegen macroliden. In het activiteitenrapport van 2013 zullen we de genen beschrijven die coderen voor die resistentiemechanismen.

Figuur 10 toont de distributie van de fenotypes van resistentie van GBS-stammen bij invasieve infecties bij volwassenen.



Figuur 10. Distributie (in %) van de fenotypes van resistentie tegen macroliden-lincosamiden van GBS-stammen die invasieve infecties veroorzaken bij volwassenen.

6.5.3. Fluorochinolonen

In 2012 was de incidentie van resistentie tegen fluorochinolonen laag: 2,02% resistentie tegen levofloxacin en 1,35% resistentie tegen moxifloxacin. Die stammen werden geïsoleerd bij volwassenen. De maximale MIC was > 32 mg/l. Eén stam vertoonde een 'intermediair' profiel met een MIC ten opzichte van levofloxacin van 2 mg/l. We zullen die resistentie goed volgen en analyseren.

6.5.4. Tetracycline

De incidentie van resistentie tegen tetracycline was hoog in 2012, net zoals bij alle stammen die het NRC GBS sinds 1995 heeft onderzocht: 87,7% van de stammen is resistent tegen tetracycline.

Die resistentie zou kenmerkend zijn voor GBS-stammen die bij de mens worden teruggevonden.

6.6. Bijdrage tot de internationale surveillancenetwerken

- **Deelname aan het Europese DEVANI-netwerk** (Design of a vaccine to immunize neonates against CBS infections through a durable maternal immune response)
- **Deelname aan een surveillanceproject in samenwerking met Nicaragua**, Universiteit van Leon
 - Pierrette Melin: Universiteit van Luik, NRC GBS
 - Teresa Aleman: Universiteit van Leon, microbiologie
- **Deelname aan een surveillanceproject in samenwerking met Uruguay**, Universiteit van Montevideo
 - Pierrette Melin: Universiteit van Luik, NRC GBS
 - Grisel Rodriguez Cuns: Hospital de Clinicas, Montevideo, microbiologie

7. Advies-, informatie- en opleidingsactiviteiten

7.1. Activiteit bij de openbare overheden

Hoge Gezondheidsraad: voorzitterschap van de groep "Richtlijnen voor de preventie van perinatale groep B-streptokokkeninfecties".

7.2. Activiteiten bij gezondheidswerkers

Conferenties op tal van regionale, nationale en internationale vergaderingen: bijscholing, LOK-groepen, seminaries, werkgroepen, congressen

7.3. Onderwijsactiviteiten

Er lopen verschillende onderwijsprogramma's over de epidemiologie, de pathofysiologie, de diagnostische methoden, de behandeling en de preventie van GBS-infecties:

- In het kader van het onderwijs medische microbiologie in het Bac3 geneeskunde, Universiteit van Luik
- In het kader van aanvullend onderwijs microbiologie in Master 2 Biomedische wetenschappen, optie klinische biologie, Universiteit van Luik
- In het kader van het onderwijs klinische microbiologie voor assistenten Klinische biologie in opleiding, Universiteit van Luik

- In het kader van het interuniversitaire certificaat Infectieziekten en klinische microbiologie, Université Libre de Bruxelles, Université Catholique de Louvain en Universiteit van Luik.

8. Onderzoek, communicatie en publicatie

8.1. Onderzoek

We voeren vooral onderzoek uit met betrekking tot de epidemiologische surveillance van invasieve infecties en kolonisatie, de ontwikkeling van technieken voor een betere screening op kolonisatie, evaluatie van preventiestrategieën, en met betrekking tot de kenmerken van de bacteriën en de gastheer die een rol spelen bij de kolonisatie.

- Voor de **epidemiologische aspecten op Europees niveau** werken we vooral samen met de leden van het **DEVANI-consortium**:
 - Berner R. (Duitsland), Kunze M. (Duitsland), Hufnagel M. (Duitsland), Decheva A. (Bulgarije), Killian M. (Denemarken), Skov Sorensen U. (Denemarken), Rosa-Fraile M. (Spanje), Rodriguez-Granger J. (Spanje), Orefici G. (Italië), Baldassarri L. (Italië), Creti Roberta (Italië), Telford J. (Italië), Margarit Y. Ros I. (Italië), Krizova P. (Tsjechië) en Efstratiou A. (VK).
- De **ontwikkeling van een nieuwe snelle techniek voor detectie van GBS** is een researchproject dat wordt gesubsidieerd door het Waalse Gewest: het **RAIDGBS-project**
 - Belangrijkste medewerkers: B. Joris (eenheid voor genetica en bacteriële fysiologie, centrum voor eiwitengineering, Universiteit van Luik), E. De Pauw (laboratorium voor massaspectrometrie, Universiteit van Luik), Robert Brasseur (numerieke moleculaire biofysica, Universiteit van Luik) en Thierry Leclipteux (Coris BioConcept, Gembloux).

8.2. Publicaties en communicaties (2011-2012)

8.2.1. Publicaties

- **Melin, P.** Neonatal Group B Streptococcal Disease: From Pathogenesis to Preventive strategies. *Clin Microbiol Infect.* 2011 Sep;17(9):1294-303. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03576.x. Epub 2011 Jun 14. Review.
- Afshar B, Broughton K, Creti R, Decheva A, Hufnagel M, Kriz P, Lambertsen L, Lovgren M, **Melin P**, Orefici G, Poyart C, Radtke A, Rodriguez-Granger J, Sørensen UB, Telford J, Valinsky L, Zachariadou L; Members of the DEVANI Study Group, Efstratiou A. [International external quality assurance for laboratory identification and typing of Streptococcus agalactiae \(Group B streptococci\)](#). *J Clin Microbiol.* 2011 Apr;49(4):1475-82. doi: 10.1128/JCM.02365-10. Epub 2011 Feb 16.
- Rodriguez-Granger J, Alvargonzalez JC, Berardi A, Berner R, Kunze M, Hufnagel M, **Melin P**, Decheva A, Orefici G, Poyart C, Telford J, Efstratiou A, Killian M, Krizova P, Baldassarri L, Spellerberg B, Puertas A, Rosa-Fraile M. [Prevention of group B streptococcal neonatal disease revisited. The DEVANI European project.](#) *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012 Sep;31(9):2097-104. Review.
- Yao, K., Poulsen, K., Maione, D., Rinaudo, D., Baldassarri, L., Telford, J., Skov Sørensen, U. B., Members of the DEVANI Study Group, Kilian, M., & **Melin, P.** (Other coll.). [Capsular Gene Typing of Streptococcus agalactiae Compared to Serotyping by Latex Agglutination.](#) *Journal of Clinical Microbiology,* 2012 51(2), 503-507.

- Independent Belgian/Luxembourg Working Party on Antimicrobial Therapy,, **Melin P.**, Arendt, V., Cartuyvels, R., Delforge, M.-L., De Waele, J., Delaere, B., Fripiat, F., Hites, M., Ieven, G., Malfroot, A., Konopnicki, D., Pierard, D., Reynders, M., Rossi, C., Tuerlinckx, D., Van Eldere, J., Verhaegen, J., & Vogelaers, D. Tables 1-1, 3-O and 4-A. *The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy 23rd edition of the Belgian/Luxembourg Version 2012-2013 (Adapted for use by the medical profession in Belgium and Luxembourg by the independent Belgian/Luxembourg Working Party on Antimicrobial Therapy (Distributed under license by the Société belge d'infectiologie et de microbiologie clinique SBIMC/BVIKM, pp. 1-500). Sperryville, USA: Jeb C. Sanford - Antimicrobial therapy Inc*

8.2.2. Conferenties op uitnodiging van P. Melin

- [GBS colonization and screening in pregnancy: how does it work in Europe ? An update on diagnosis, management and treatment of neonatal group B streptococcal infections](#), Rome, Italie (2011)
- [Perinatal group B streptococcal infections: A European perspective](#). Siemens academy 2011
- [Group B streptococci, a European perspective with results of the DEVANI project .group. 27th Annual Meeting "Diagnostic et surveillance des maladies infectieuses"](#). Bruxelles, Belgique: ISP (2011)
- [GBS and the neonate : prevention strategies. 30th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases \(2012\)](#)
- [GBS epidemiology & Vaccine need in developed countries](#). Prevention of perinatal Group B streptococcal disease through maternal immunization, Siena, Italy (2012).
- [Prevention for GBS perinatal disease: Which improvements for GBS screening? Evaluation of a loop mediated isothermal amplification \(LAMP\) assay for the detection of group B streptococci](#). Meridian Bioscience sessions presented by Microbiology Experts, Bruxelles, Belgium (2012)
- [GBS Screening in Belgium: current and future guidelines](#). Impact of Rapid and Easy-to-Use Molecular Diagnostics on Health Care Clinical and Economical, on Workflow (In the Lab) and Patient Pathway, Antwerpen, Belgium (2012)
- [Perinatal infections – The GBS successful practices in prevention](#). « Laboratory Testing in Pregnant Women and Children » Symposium BVKB-SBBC Belgian Society for Clinical Biology, Gent, Belgium (2012).

8.2.3. Mededelingen op congressen

- Imperi, M., Rinaudo, D., Creti, R., Pataracchia, M., Rosini, R., Nuccitelli, A., Kriz, P., Kilian, M., Hufnagel, M., Efstratiou, A., de la Rosa, M., **Melin, P.**, Detcheva, A., Baldassarri, L., & Maione, D. [Pili genes pattern in Group B streptococci from newborn infections and pregnant women in Europe \(DEVANI Project\)](#). Poster session presented at Lancefield 2011, XVIIIth LISSSD, Palerme, Italie.
- **Melin, P.**, Berner, R., Afshar, B., Baldassarri, L., Detcheva, A., de la Rosa, M., Kunze M, Kriz, P., Orefici, G., Efstratiou, A., Hufnagel, M., Kilian, M Seidel, L., Telford, J. on behalf of the DEVANI Consortium Team. [Neonatal invasive group B streptococcal infections in Europe](#). Poster session presented at XVIIIth Lancefield symposium (LISSSD 2011), Palerme, Italie.
- **Descy, J., Ackermans, Y., Boreux, R., Meex, C., Rémont, L., Rodriguez Cuns, G., & Melin, P.** (2012). [Phenotypical and genotypical surveillance of macrolide and lincosamide resistance in group B streptococcus in Belgium](#). *Program and Abstract of the 52nd Intersciences Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Washington, USA: ASM.
- **Dodemont M,** Vanhouteghem K, **Sarlet G, Descy J, Sacheli R, Meex C,** Van Den Abeele AM, **Melin P.** [Evaluation of a loop mediated isothermal amplification \(LAMP\) assay for the detection of group B streptococci](#) Symposium BVKB-SBBC Belgian Society for Clinical Biology (2012).