
Centre National de Référence

Streptococcus agalactiae



Rapport d'activités

2017

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 2017	5
4 Démarche qualité	5
4.1 Accréditation	6
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 2017.....	8
6.2 Souches isolées d'infections néonatales invasives.....	8
6.2.1 Infections néonatales précoces ou EOD	9
6.2.2 Infections néonatales tardives ou LOD (pour Late Onset Disease).....	10
6.2.3 Infections fœtales (<i>mort in utero, fausse couche</i>)	10
6.3 Souches isolées chez la femme dans un contexte obstétrical	11
6.4 Souches de GBS isolées d'infections invasives de l'adulte (hors contexte obstétrical)	11
6.4.1 Age et sexe des patients présentant une infection invasive à GBS chez l'adulte	11
6.4.2 Distribution des sérotypes de GBS responsables d'infection invasive chez l'adulte	12
6.5 Surveillance de la résistance aux agents antimicrobiens.....	13
6.5.1 Pénicilline et autres β -lactames	13
6.5.2 Macrolide et clindamycine	14
6.5.3 Fluoroquinolones.....	16
6.5.4 Tétracycline.....	17

6.6	Expression des protéines de pili.....	17
6.7	Contribution aux réseaux de surveillance internationaux.....	19
7	Activités de Conseil, d'information, de formation	19
7.1	Activité auprès des autorités publiques	19
7.2	Activités auprès des professionnels	19
7.3	Activité d'enseignement	19
7.4	Conseils et expertises diverses	20
8	Recherche, communication et publication	20
8.1	Recherche.....	20
8.2	Publications et communications à des congrès	20
8.2.1	Publications.....	20
8.2.2	Communications orales	20
8.2.3	Posters	20

1 Introduction

Une des missions principales du Centre National de Référence (CNR) *Streptococcus agalactiae* (ou GBS pour streptocoque du groupe B de Lancefield), est de contribuer à la surveillance épidémiologique nationale de l'évolution des infections invasives humaines et des caractéristiques microbiologiques, y compris le profil de sensibilité aux agents antimicrobiens, des isolats de GBS responsables de ces infections. Le programme de surveillance comprend les infections invasives de l'adulte et les infections invasives périnatales. La surveillance de l'évolution des souches de colonisation génitale et rectale fait l'objet d'étude de surveillance limitée dans le temps et n'est pas organisée chaque année.

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 2017, 59 laboratoires répartis dans tout le pays ont envoyé au CNR GBS un total de 271 souches et 269 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 avec demande de confirmation.

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 2017

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 2017 :

- 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 en développant une PCR multiplex ciblant simultanément les gènes de résistance *IsaC*, *ermB*, *ermTR* et *mefA*.
- A développer de nouveaux outils diagnostiques notamment en évaluant l'efficacité de tests de détection rapides des GBS par PCR à la maternité. Une collaboration avec la firme GenePOC* (Quebec, Canada) pour la validation du test PCR en temps réel GenePOC GBS DS testé sur le système Révogène a été réalisée en 2017.
* : En 2019, GenePOC est devenu Revogène (Meridian Bioscience, Cincinnati, Ohio, USA).
- 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.

La mise en place du système qualité du CNR GBS selon la norme ISO 15189 s'est effectuée de 2011 à mi-2013. Elle 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. L'audit d'accréditation avec obtention du Certificat BELAC a eu lieu en mai 2013. Un audit de surveillance a eu lieu en 2016 et 2017 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	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 données.

(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 en 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 sérotype capsulaire est déterminé ; certaines souches restent non typables par les méthodes d'agglutination. La réalisation de tests de sensibilité aux agents antimicrobiens est réalisée dès la réception de la souche si demandée, sinon les tests de sensibilité aux agents antimicrobiens sont réalisés périodiquement par batch. Les rapports de résultats sont envoyés au laboratoire expéditeur de la souche. Dès réception, après confirmation de l'identification, les isolats sont mis en collection (congélation à -80°C dans du lait écrémé). La température des congélateurs est sous surveillance informatisée. L'ensemble des données microbiologiques et informations transmises 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 2017

En 2017, 271 souches ont été expertisées au CNR GBS à la demande de 59 laboratoires répartis dans tout le pays. L'identification GBS a été confirmée pour 269 souches. Un total de 258 souches provenait d'infections invasives ; ces souches avaient été isolées d'hémocultures, de liquides céphalo-rachidien (LCR) ou d'autres sites normalement stériles. Pour l'analyse des résultats présentée dans ce rapport, les souches ont été regroupées par catégorie de patients infectés par GBS (nouveau-nés avec infections précoces/tardives, et adultes dans un contexte obstétrical ou non).

6.2 Souches isolées d'infections néonatales invasives

En 2017, 47 souches (17,5% du nombre total de souches de GBS reçues dans l'année), avaient été isolées à partir de sang ou de LCR de nouveau-nés présentant un épisode d'infection invasive prouvée : 23 cas d'infection précoce (ou EOD pour Early Onset Disease, survenant à ≤ 6 jours), et 24 cas d'infection tardive (ou LOD pour Late Onset Disease, se manifestant après la première semaine de vie jusqu' à 90 jours ou plus).

Le nombre de souches reçues annuellement par le CNR GBS et provenant de cas d'infection tardive, est resté assez stable jusqu'en 2014 et depuis une augmentation a été observée. Concernant les infections périnatales précoces, depuis l'implémentation des stratégies de prévention de l'infection précoce en 2003, le nombre de souches reçues isolées de cas d'infection précoce a diminué jusqu'en 2013 et puis le nombre de souches a augmenté pour rester relativement stable (Voir Figure 1). Quand on regarde le ratio du nombre de souches isolées de cas d'infection précoce sur le nombre de souches isolées de cas d'infection tardive, un rapport de 2,8 en 2002 a progressivement évolué vers une valeur de 0,4 en 2013. Depuis 2015 ce ratio varie autour de 1. Globalement depuis 2015, le nombre de cas rapportés de EOD et de LOD a augmenté : il n'y a pas *a priori* de raisons d'observer une telle augmentation de la survenue des cas d'infections néonatales mais ces chiffres pourraient être le reflet d'un meilleur recrutement des laboratoires participants aux envois sur base volontaire. En pratique, le nombre de laboratoires contribuant volontairement à ces envois a en effet augmenté, mais pourrait ne pas être la seule explication. En Belgique, les infections néonatales invasives à GBS ne sont pas à déclaration obligatoire, il est donc difficile d'obtenir une information précise de l'incidence de ces infections périnatales précoces et tardives pour confirmer ces hypothèses d'un meilleur recrutement et ou d'une augmentation réelle du nombre de cas. Un des objectifs du CNR pour les prochaines années sera d'obtenir des données exhaustives pour des populations déterminées afin d'évaluer l'efficacité des stratégies de prévention mises en place.

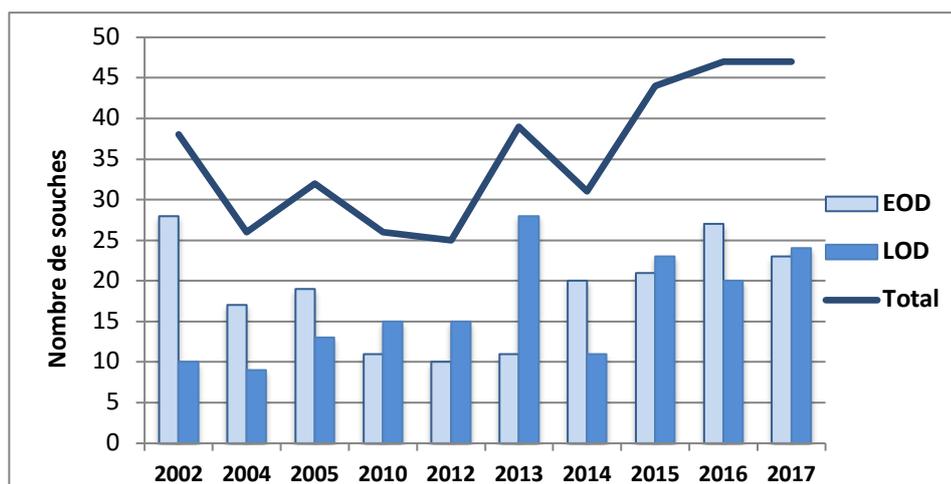


Figure 1: Répartition des souches de GBS isolées d'infection néonatale en fonction du type d'infection précoce (EOD) ou tardive (LOD) de 2002 à 2017

6.2.1 Infections néonatales précoces ou EOD

En 2017, les souches de GBS isolées de 23 cas d'infections néonatales précoces ont été caractérisées. Toutes les souches étaient isolées d'hémocultures.

Depuis 2004, le pourcentage de cas d'infection précoce avec méningite varie assez peu, de 0 à 14,8%. (Voir **figure 2**). Il était de 0% en 2017.

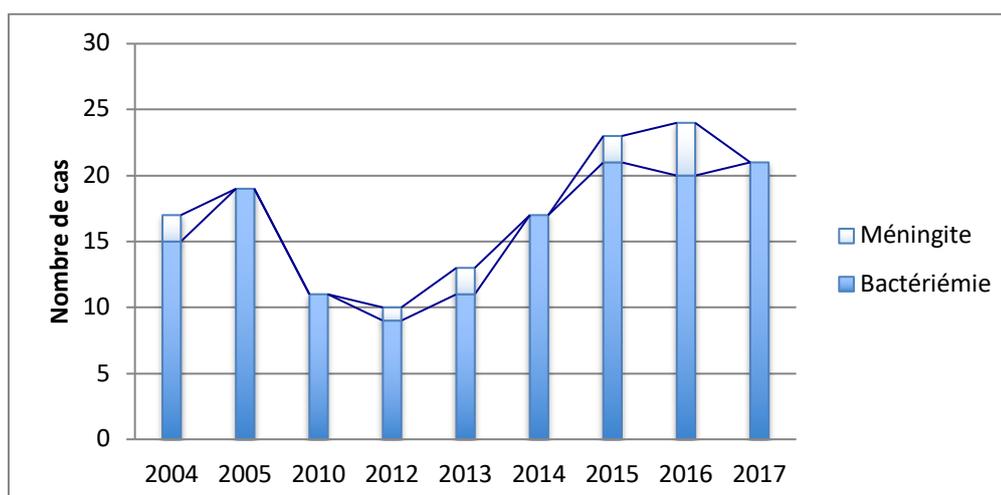


Figure 2 : Répartition du nombre annuel de cas d'infection néonatale précoce à GBS associée ou non à une méningite en 2004, 2005, 2010, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016 et 2017.

L'EOD est caractérisé par l'apparition rapide des signes d'infection : dans plus de 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 0,64 (14 filles contre 9 garçons).

La **figure 3** présente la distribution des sérotypes capsulaires des souches isolées d'infections précoces. Par ordre décroissant, le sérotype le plus fréquent en 2017 était le Ia (30,4% des cas, n=7), suivi par les sérotypes III et V (26,1% des souches, n=6 et 6), II (13,0% des souches, n=3), et IX (3,7% des souches, n=1). Les autres sérotypes n'ont pas été identifiés dans les souches isolées d'infection précoce en 2017. Comme rapporté précédemment, toutes les souches d'infections précoces caractérisées par le CNR exprimaient une capsule identifiable par agglutination.

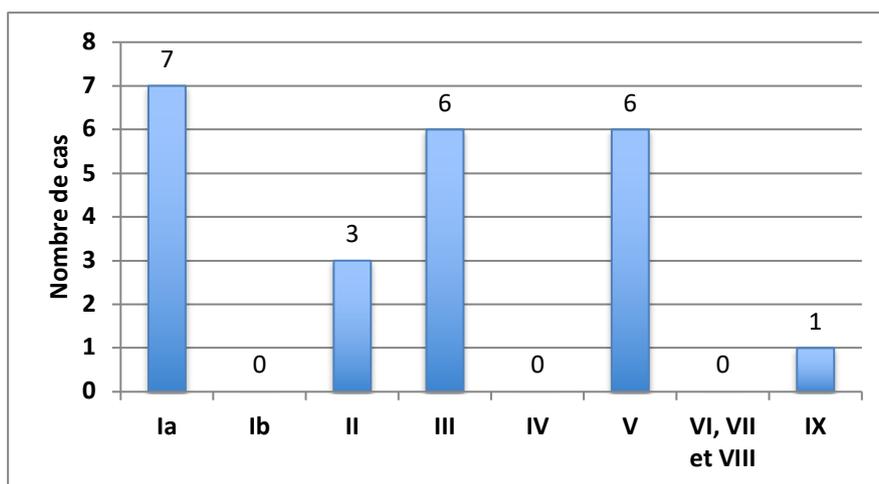


Figure 3 : Distribution des sérotypes capsulaires de GBS isolés d'infection néonatale précoce (EOD) en 2017.

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

En 2017, les souches de GBS isolées d'hémoculture ou de LCR de 24 cas d'infection néonatale tardive ont été caractérisées. Dans 3 cas sur 24, sur base de l'origine des prélèvements et données cliniques renseignées, l'infection se traduisait par une méningite. L'âge moyen de l'apparition de l'infection était de 36,8 jours (de 15 à 85 jours).

La **figure 4** présente la distribution des sérotypes capsulaires des souches isolées d'infections tardives. Le sérotype III prédomine largement dans 70,9% des cas (n=17). Suivaient le sérotype Ia (20,8% n=5), IV (4,2%, n=1) et V (4,2% des cas, n=1).

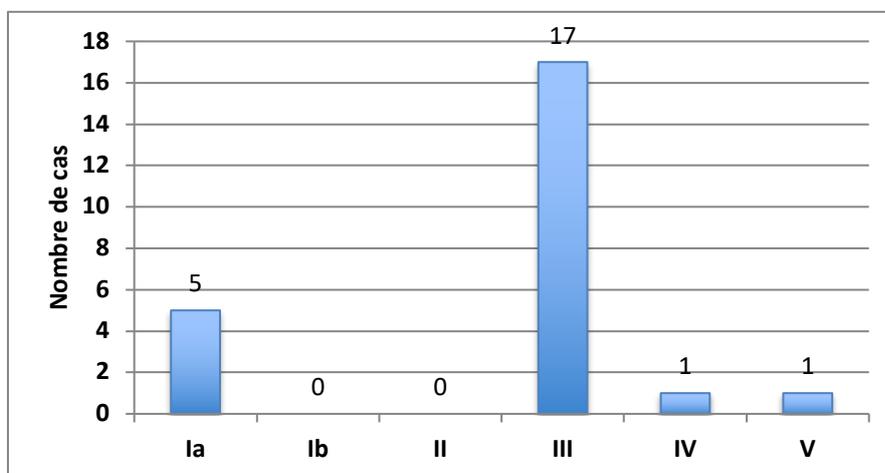


Figure 4 : Distribution des sérotypes capsulaires de GBS isolés d'infection néonatale tardive (LOD) en 2017

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

En 2017, 1 cas de *mort in utero* et 3 fausses couches potentiellement causées par un GBS ont été rapportés.

Même si ces cas sont rares, il est important de signaler au CNR, toute fausse couche ou *mort in utero* pouvant être mise en relation avec une infection à GBS. En effet la future vaccination devrait contribuer à la prévention de 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 2017, huit souches de cas de bactériémie durant la grossesse ou en péripartal ont été transmises au CNR.

Parmi les sérotypes déterminés pour les GBS impliqués dans ce type d'infection, le sérotype Ia a été identifié à 3 reprises, le sérotype III 2 fois et les sérotypes II, IV et V une fois chacun, soit une distribution comparable à celle des infections périnatales précoces.

6.4 Souches de GBS isolées d'infections invasives de l'adulte (hors contexte obstétrical)

En 2017, le CNR GBS a analysé 199 souches de GBS responsables d'infections invasives chez l'adulte en dehors d'un contexte de grossesse.

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

Manifestations cliniques	Nombre (%) de cas en 2017 (N = 199)
Bactériémies isolées (ou sans foyer mentionné)	110 (55,5)
Infections localisées (avec ou sans bactériémie) :	
- Origine ostéo-articulaire	14(7,02)
<i>Ostéite/ostéomyélite</i>	0(0)
<i>Arthrite septique</i>	4(2)
<i>Autre (origine ostéo-articulaire)</i>	10(5,02)
- Infections peau et tissus mous (<i>érysipèle, cellulite, abcès, plaies</i>)	29(14,5)
- Infections respiratoires	4 (2)
- Méningite	3(1,5)
- Infection voies urinaires	2 (1)
-Endocardite	5 (2,5)
- Autres	0 (0)
Non spécifiées	32 (16,12)

Tableau 1: Distribution des manifestations cliniques des infections à GBS rencontrées chez l'adulte en dehors d'un contexte de grossesse, en 2017.

Le taux de diagnostics/manifestations cliniques non spécifiés est de 16,12%. Il était de 21% en 2015. Ce manque d'informations paraît en baisse par rapport aux années précédentes. Nous insistons toutefois sur l'importance du remplissage du formulaire de demande mis à la disposition par le CNR et disponible sur simple demande à l'ISP ou au CNR GBS ou directement en ligne sur le site de l'ISP.

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

En 2017, le groupe des « > de 70 ans » était le plus touché par ces infections (sur âges renseignés).

Parmi les adultes, pour 66 patients (33,22%), la présence d'au moins une co-morbidité telle que notamment une immunodépression, un cancer, une cirrhose, un diabète, une insuffisance rénale était renseignée.

Le ratio Homme /Femme était de 1 (98 hommes, 98 femmes, 3 patients avec genre non renseigné).

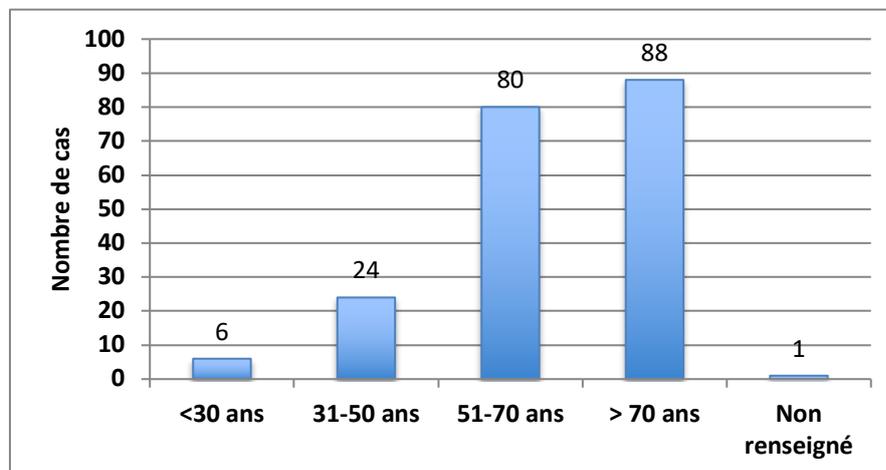


Figure 5 : Distribution du nombre de cas d'infection invasive à GBS chez l'adulte en fonction de l'âge.

6.4.2 Distribution des sérotypes de GBS responsables d'infection invasive chez l'adulte

La distribution des sérotypes des GBS responsables d'infections chez l'adulte est très différente de celle rencontrée dans les EOD et LOD chez les nouveaux nés. En 2017, comme le montre la **figure 6**, le sérotype V prédomine avec 24,6% des cas (n=49), il est suivi par les sérotypes III 17,6% des cas (n=35), II 17,1% (n=34), Ia 16,6% (n=33), IV avec 10,05% des cas (n=20), Ib 8,5% des cas (n=17). Les sérotypes VI et VII sont représentés à raison de 3 souches chacun (1,5% des cas) et le sérotype IX représentent 1% des cas (n=2). Trois souches restent non typables même après génotypage moléculaire (1,5% des cas).

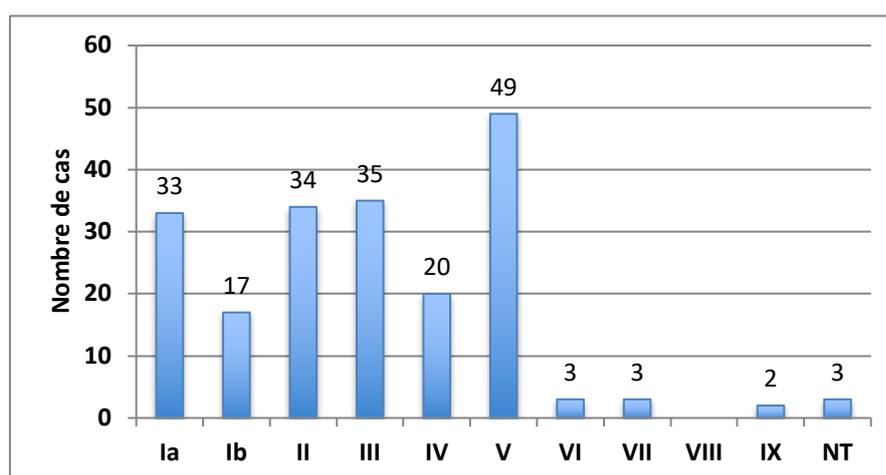


Figure 6 : Distribution des sérotypes capsulaires de 195 GBS isolés d'infection invasives chez l'adulte en 2017.

La **figure 7** compare les distributions des sérotypes des GBS responsables d'infection invasives par groupe d'âge. Cette figure montre clairement la prédominance du sérotype III dans les infections néonatales tardives (LOD), cette prédominance n'est pas présente pour les cas de EOD ou c'est le sérotype Ia qui prédomine en 2017. Chez l'adulte, les sérotypes V, III, II et Ia sont prédominants en 2017. Les sérotypes VI à IX sont très peu représentés en Belgique.

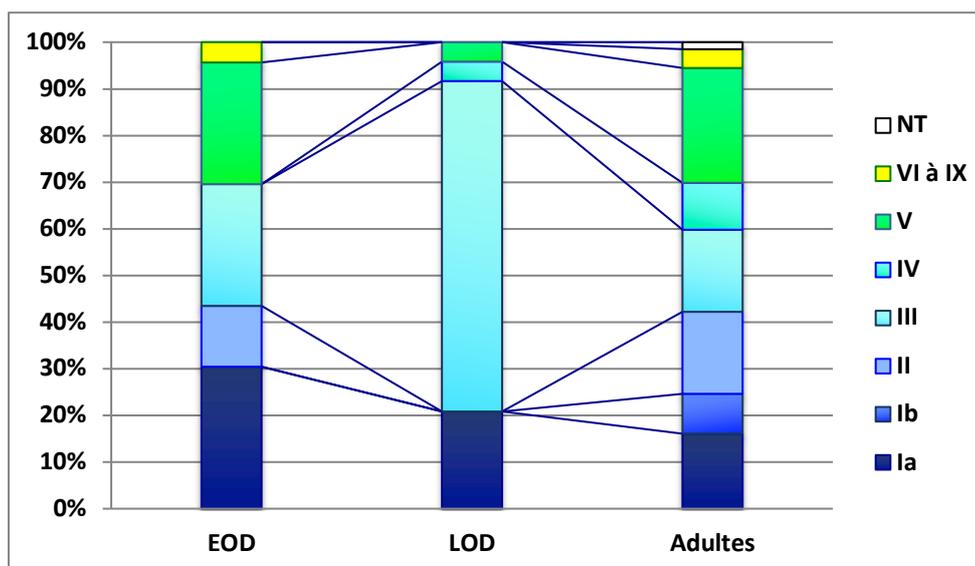


Figure 7: Répartition des sérotypes capsulaires de GBS responsables d'infections invasives (par groupe d'âge) en 2017.

6.5 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 CMI (pénicilline, ampicilline, céfazoline, céfotaxime, érythromycine, clindamycine, lévofloxacine, moxifloxacine, télichromycine et tétracycline) sont déterminées par une méthode de microdilutions en milieu liquide à l'aide du système Sensititre™ (Thermo Scientific, USA) utilisant des microplaques dont la composition est spécifique pour le CNR GBS belge. 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 associés à la résistance.

6.5.1 Pénicilline et autres β -lactames

En 2017, 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, 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 2017, aucune souche n'a démontré une potentielle réduction de la sensibilité à la pénicilline.

6.5.2 Macrolide et clindamycine

En 2017, l'incidence de la résistance des GBS à l'érythromycine est de 38 % et à la clindamycine 32,2%. Une augmentation autour de 6% du taux de résistance pour l'érythromycine/clindamycine est observée par rapport à 2015, Ce taux de résistance était par contre de 42% en 2016.

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.

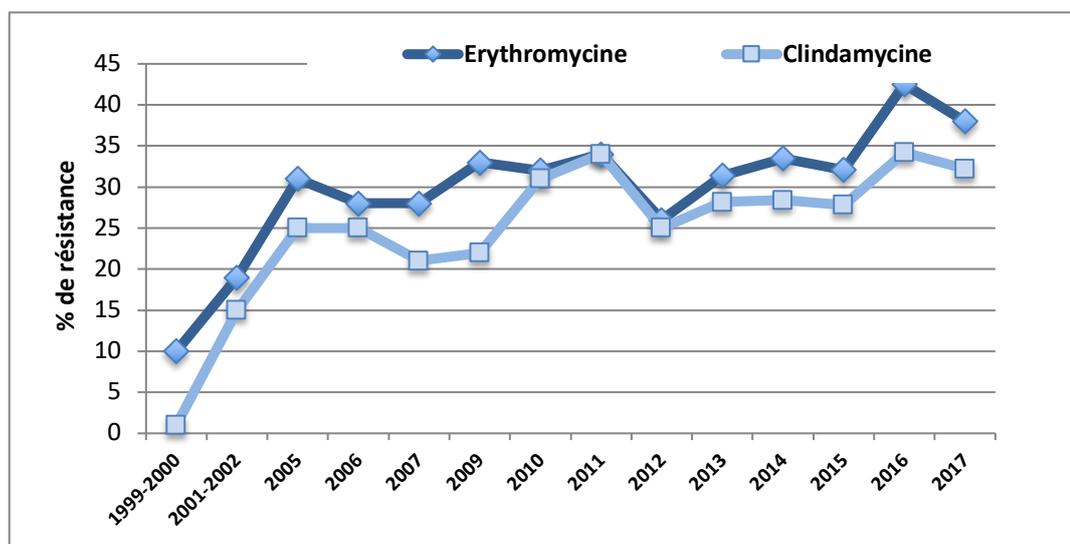


Figure 8 : Evolution de l'incidence de la résistance des GBS à l'érythromycine et à la clindamycine de 1999 à 2017

L'incidence de la résistance à l'érythromycine n'est pas distribuée de manière homogène au sein des différents sérotypes (voir **figure 9**). Cette incidence est la plus élevée au sein des souches de GBS de sérotypes IV, V et Ib avec 62,1%, 50% et 47,6% de taux de résistance au sein de ces sérotypes, respectivement.

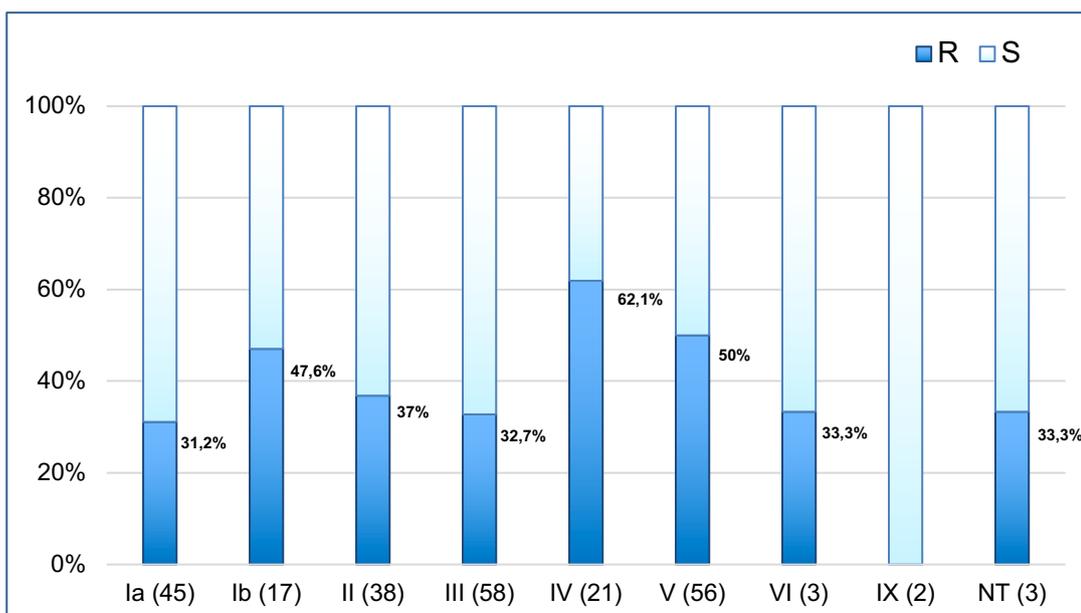


Figure 9 : Taux de la résistance (%) des GBS aux macrolides et/ou au lincosamides au sein des différents sérotypes (nombre de souches).

En 2017, 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 38,7% (80/207). Chez le nouveau-né, on observe un taux de résistance à l'érythromycine et/ou clindamycine de l'ordre de 36% (17/47). Ce taux était de 22% en 2015 et est donc en forte augmentation dans cette tranche 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 inducible (souches résistantes à l'érythromycine et à la clindamycine uniquement détectée *in vitro* en présence d'érythromycine, MLSi), respectivement dans 57,8% et 33,7% des souches de GBS résistantes à l'érythromycine/clindamycine. Le phénotype M représente 15% des souches et caractérise les souches résistantes isolément à l'érythromycine et sensibles à la clindamycine.

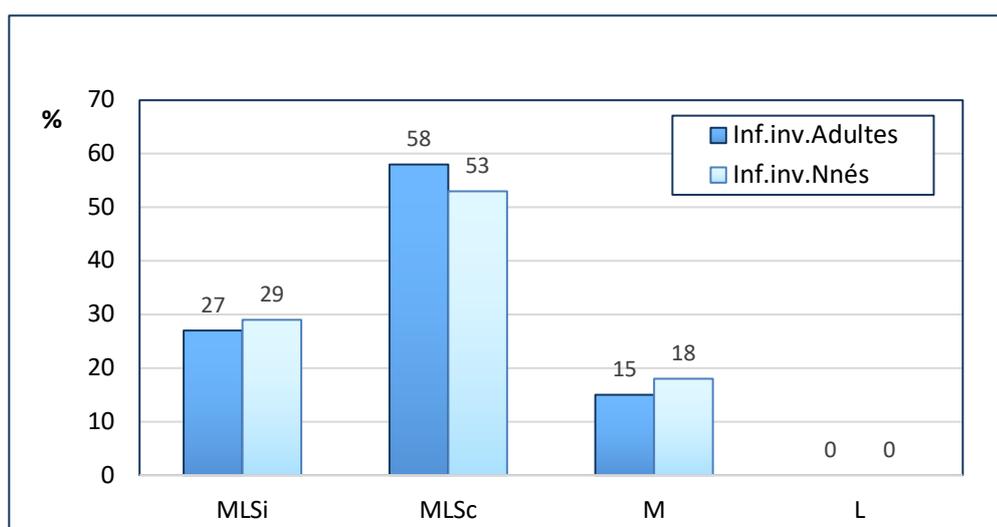


Figure 10: Répartition (%) des phénotypes de résistance aux macrolides-lincosamides des 80 souches de GBS isolées d'infections invasives chez l'adulte et des 17 souches isolées d'infection invasive chez le nouveau-né, reçues par le CNR en 2017.

En 2017, aucune souche de phénotype L (résistance isolée aux lincosamides) n'a été retrouvée au sein des souches invasives adultes belges, La distribution des phénotypes de résistance des souches de GBS reçues au CNR (adultes) en 2017 est présentée en **figure 10**.

En ce qui concerne les infections invasives chez le nouveau-né (figure 10), 53% des résistances observées sont des profils MLSc, 29% sont des profils MLSi et 18% sont des profils M.

Les souches résistantes aux macrolides et linconsamides ont été caractérisées génotypiquement pour la présence des gènes *ermTR* et *ermB* (caractérisés dans les cas de résistance MLS inductibles ou constitutives) et *mefA* (identifié essentiellement au sein des souches de phénotype M, caractéristique du mécanisme d'efflux) responsables de cas d'infections invasives chez l'adulte et le nouveau-né. Chez l'adulte, le gène *mefA* a été retrouvé dans 13 souches de GBS, 3 fois co-exprimé avec *ermB* et 1 fois co-exprimé avec *IsaC*. Le gène *ermTR* est retrouvé dans 31 cas. Le gène *ermB* est retrouvé au sein de 37 souches résistantes, 3 fois co-exprimé avec *mefA*, une fois co-exprimé avec *IsaC*. 2 souches avec un profil phénotypique résistant confirmé, ne présentaient aucun des quatre gènes recherchés. La répartition des gènes recherchés au sein des souches résistantes à l'érythromycine et à la clindamycine isolées de cas d'infections invasives chez l'adulte (y compris contexte obstétrical), est représenté en **figure 11**.

Chez le nouveau-né, le gène *ermB* est présent au sein de 7 souches de phénotype résistant, 4 fois co exprimé avec *mefA*. Le gène *ermTR* est détecté au sein de 4 souches. Le gène *mefA* est exprimé par 7 souches, dont 4 fois co exprimé avec *ermB*. Pour 3 souches présentant un phénotype résistant aucun des gènes recherchés n'a été identifié. La répartition des gènes de résistance au sein de cette population est représentée en **figure 11**.

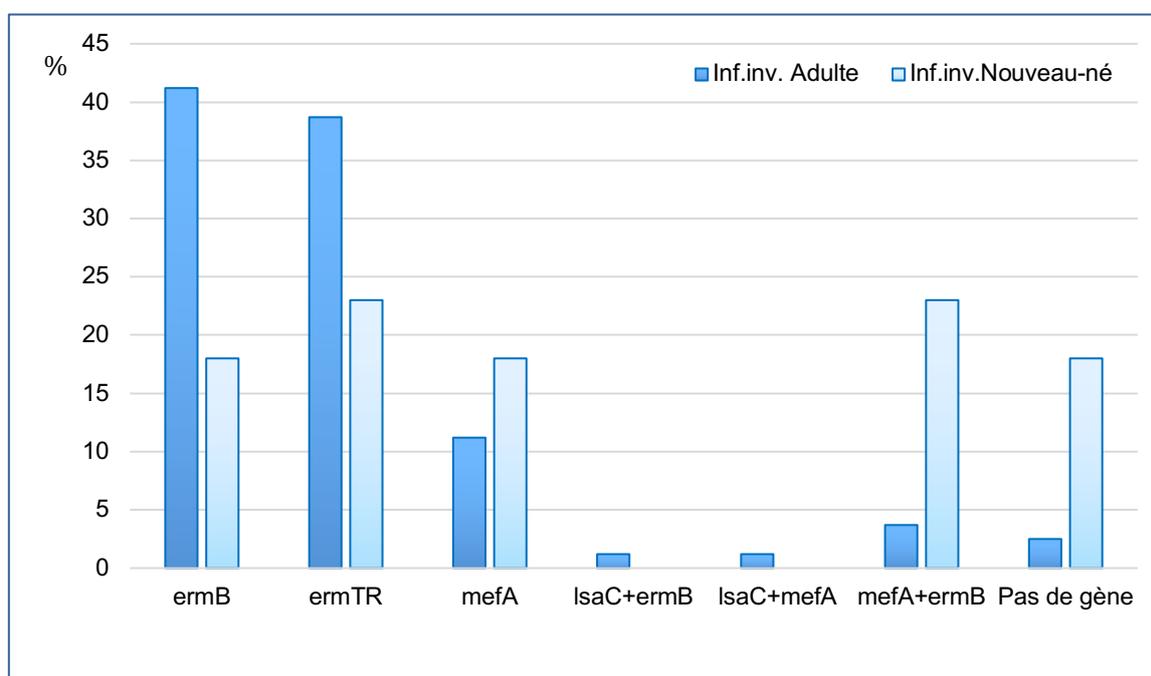


Figure 11 : Répartition (en %) des gènes de résistance *ermB*, *ermTr*, *mefA* et *IsaC* des souches de GBS isolées d'infections invasives chez l'adulte (n= 80) et chez le nouveau-né (n= 17), en 2017.

6.5.3 Fluoroquinolones

En 2016, l'incidence de la résistance aux fluoroquinolones était de 0,79% (2/252) pour la lévofloxacine et la moxifloxacine. En 2017 13/258 souches sont résistantes à la lévofloxacine

et/ou la moxifloxacine, générant un taux de résistance de 5,05%. Ce taux est le plus élevé jamais enregistré par le centre de référence depuis 2012.

6.5.4 Tétracycline

Comme pour les souches étudiées par le CNR GBS depuis 1995, l'incidence de la résistance à la tétracycline est élevée en 2017. Le taux de résistance est de 88,49% (227/258) contre 98% en 2016 et 90% en 2015. Ce taux rejoint donc le taux retrouvé en 2015.

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

6.6 Expression des 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 est actuellement à l'étude pour tenter d'induire une immunité efficace contre *S. agalactiae*. C'est pourquoi, il est primordial de suivre la distribution des pili au sein de la population de GBS en Belgique. Les 199 souches de GBS provenant d'infections invasives chez l'adulte (hors contexte obstétrical) et 47 souches provenant d'infections invasives chez le nouveau-né ont été caractérisées en termes de gènes des 3 types de PI codant pour ces 3 types de protéines de pili (**figure 12**).

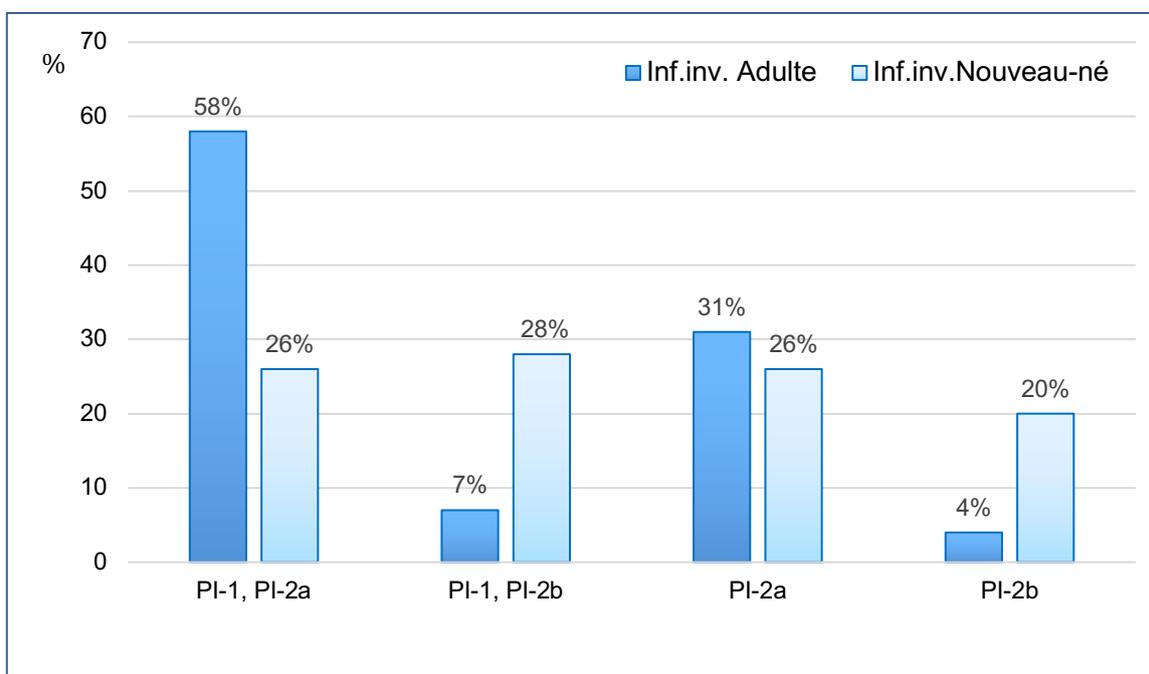


Figure 12: Distribution des types de PI codant pour les protéines de pili au sein des souches de GBS isolées d'infections invasives chez l'adulte (n=199) et chez le nouveau-né (n=47) en 2017.

La caractérisation génétique des PI codant pour les protéines de pili au sein des souches de GBS de 2017, nous a permis de démontrer qu'en Belgique, chez les adultes, la distribution du couple PI-1, PI-2a (n=116, 58% des cas) est prédominante suivie par PI-2a seul (n=62, 31% des cas), du

couple PI-1, PI-2b (n=14, 7% des cas) et finalement de PI-2b seul (n=7, 4% des cas). Cette distribution varie peu au cours des années.

Chez le nouveau-né, on retrouve majoritairement le couple PI-1, PI-2b (13 /47 28% des cas), suivi de PI-1, PI-2a (12/47, 26 %), de PI-2a seul (12/47 26%) et de PI-2b seul (9/47, 20%). Cette répartition est beaucoup plus homogène que chez les adultes.

Plus précisément au sein des EOD, 8 souches étaient positives pour le couple PI-1, PI-2a, 5 pour le couple PI-1, PI-2b, 7 pour PI-2a, et 2 pour PI-2b. Au sein des LOD, 4 souches sont positives pour le couple PI-1, PI-2a, 8 souches pour PI-1, PI-2b, 5 souches pour PI-2a et 7 souches pour PI-2b seul (voir **figure 13**).

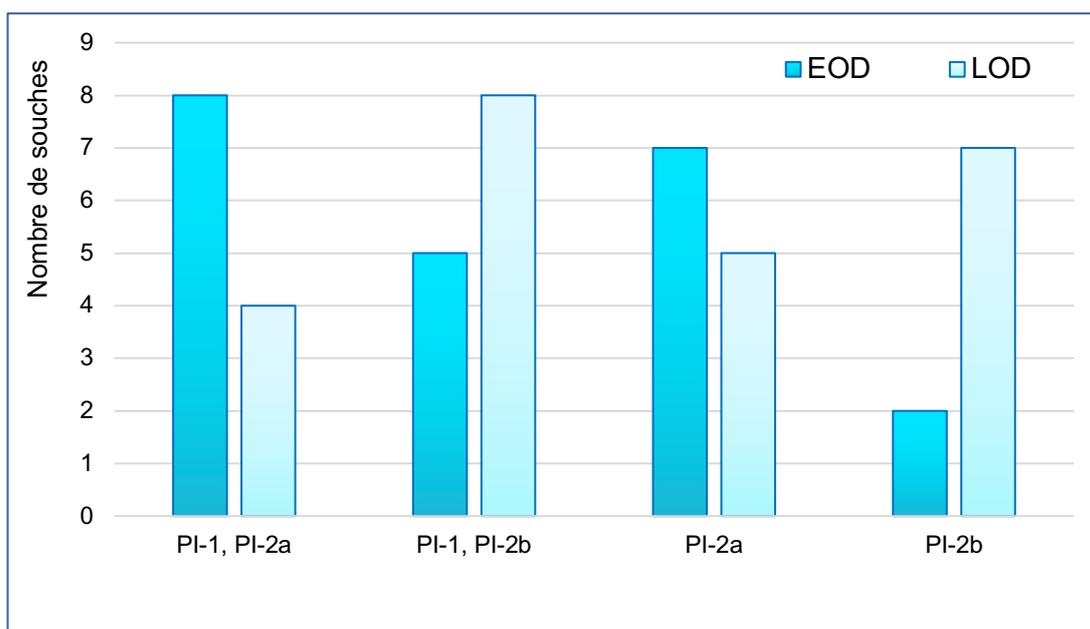


Figure 13: Répartition des gènes des PI codant pour les protéines pili de 46 souches de GBS isolées d'infections invasives chez le nouveau-né, en distinguant les EOD des LOD.

Chez l'adulte, la distribution des types de PI codant pour les protéines de pili en fonction du sérotype est décrite en **figure 14**.

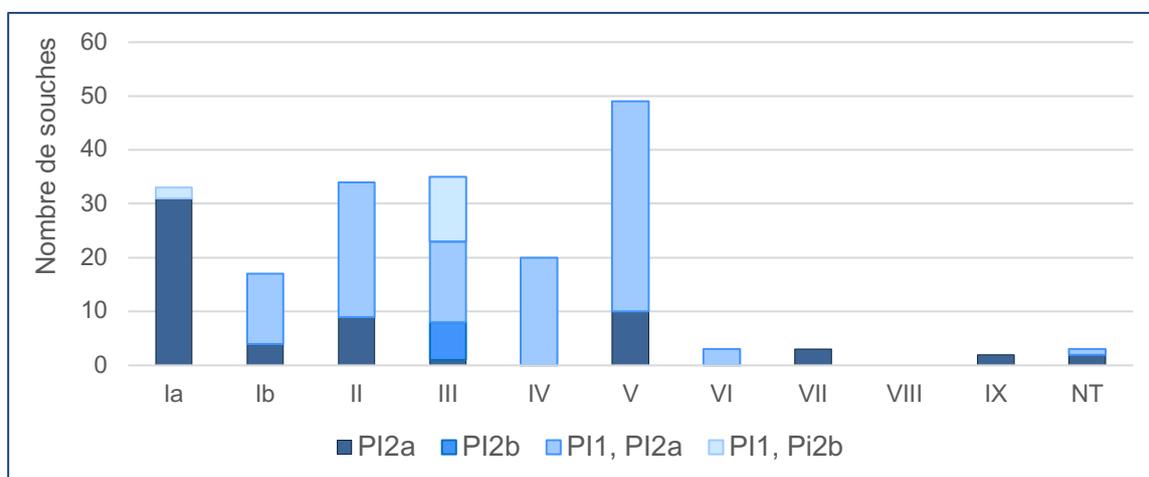


Figure 14 : Distribution des gènes des PI codant pour les protéines pili en fonction du sérotype capsulaire de 199 souches de GBS isolées d'infections invasives chez l'adulte (CNR, 2017).

La distribution des pili n'est pas identique dans les souches de différents sérotypes. Le profil PI-1, PI-2b se distribue en grande majorité au sein du sérotype III mais est également retrouvé en minorité au sein du sérotype Ia. Le profil PI-2a est essentiellement retrouvé au sein du sérotype Ia où il est largement majoritaire, on le retrouve exclusivement au sein des quelques souches de sérotypes VII et IX ainsi que chez les souches NT. On le retrouve également en minorité au sein du sérotype Ib, II, III, V. Le profil PI-1, PI-2a se répartit dans à peu près tous les sérotypes (à l'exception des Ia, VII et IX) et est majoritaire au sein des sérotypes Ib, II, III, IV, V, VI. Le profil PI-2b se retrouve exclusivement au sein du sérotype III.

6.7 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux

Depuis plusieurs années,

- nous entretenons d'excellentes relations et collaborations avec le CNR Streptocoques français (Prof. Claire Poyart),
- 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; Efstratiou A, UK.
- Nous poursuivons également des collaborations avec l'hôpital universitaire Bach Mai de Hanoi au Vietnam, avec l'université de Leon au Nicaragua et l'université de Montevideo / Institut de santé publique en Uruguay.

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 clinique et conseils thérapeutiques.

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 à des congrès

8.2.1 Publications

Cools P, Melin P. **Group B Streptococcus and perinatal mortality** Res Microbiol. 2017 Nov - Dec;168(9-10):793-801. doi: 10.1016/j.resmic.2017.04.002. Epub 2017 Apr 20.

<http://hdl.handle.net/2268/212300>

8.2.2 Communications orales

Meex, C., Dupont, A., Sacheli, R., Descy, J., Huynen, P., Hayette, M.-P., & Melin, P. (2017, October 19). **Evaluation of the Xpert®GBS LB test (Cepheid) performed on antenatal screening LIM enrichment broth for detection of Streptococcus agalactiae or group B streptococcus, compared to the reference culture method.** Paper presented at 20th Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases 2017, Denarau Island, Fiji. <http://hdl.handle.net/2268/213838>

Meex C. **Stratégie de dépistage du streptocoque du groupe B en intrapartum : Evaluation de la mise en pratique d'un test PCR réalisé en point-of-care par les sages-femmes.** Réunion du Pôle mère-enfant – Notre-Dame des Bruyères 20 novembre 2017

Meex C. **Evaluation du test GenePOC GBS sur échantillons vaginaux intrapartum en comparaison de la culture intrapartum** Réunion du Pôle mère-enfant – Notre-Dame des Bruyère 20 novembre 2017

8.2.3 Posters

Meex C., Devey A., Pham Hong, N., Van Geet M., Darfouf R. Sacheli R. Melin P. **Prevalence and capsular-polysaccharide type distribution of colonizing group B streptococci (GBS) isolated**

from recto-vaginal samples in pregnant women in Hanoi, Vietnam. Octobre 2017 20th Lancefield, FIJI
<http://hdl.handle.net/2268/214474>

DAUBY N., ADLER, C. Y MIENDJE DEYI, V. BUSSON L., CHAMECKH M. DELFORGE M. MACHANT A, BARLOW P., DE WIT S, LEVI J, MELIN P, Goetghebuer, T. **Prevalence and characteristics of group B streptococcus colonization in HIV-infected pregnant women in Belgium** Octobre 2017 20th Lancefield, FIJI
<http://hdl.handle.net/2268/213705>

Sacheli R, Descy J, Meex C, Huynen P, Hayette MP Melin P. **Evolution of rate and genotypes of resistance to macrolide/lincosamide among invasive Group B Streptococcus (GBS): Development of a multiplex PCR tool for simultaneous detection of ErmB, ErmTr, MefA and LsaC resistance genes.** Octobre 2017 20th Lancefield, FIJI
<http://hdl.handle.net/2268/214475>

Sacheli R, Meex C, Descy J, Huynen P., Hayette MP Melin P. **Update of the characteristics of Group B Streptococci (GBS) colonizing pregnant women in Belgium: capsular-type distribution, pili characterization, antimicrobial susceptibility profile and Multiple Locus Sequence Types.** Octobre 2017 20th Lancefield, FIJI.
<http://hdl.handle.net/2268/213837>