

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΑΘΗΝΩΝ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΛΟΙΜΩΞΙΟΛΟΓΙΑ»

β- ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΟΣ ΣΤΡΕΠΤΟΚΟΚΚΟΣ

ΟΜΑΔΑΣ Β:

ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΑΠΟΙΚΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ
ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΣΕ ΕΓΚΥΟΥΣ ΣΤΗΝ ΑΘΗΝΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ:

Τσολιά Μαρία

Καθηγήτρια Παιδιατρικής- Λοιμωξιολογίας

ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΚΥΡΙΤΣΑ

ΠΑΙΔΙΑΤΡΟΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ

ΙΟΥΛΙΟΣ 2022

**NATIONAL AND KAPODISTRIAN UNIVERSITY OF
ATHENS**

MEDICAL SCHOOL

**MASTER'S DEGREE PROGRAM IN "PEDIATRIC
INFECTIOUS DISEASES"**

**Group B Streptococcus: Prevalence and risk factors
in pregnant women in Athens**

Supervisor:

Tsolia Maria

Professor of Paediatrics- Infectious Diseases

Postgraduate student:

Kyritsa Evangelia

Paediatrician

ATHENS

JULY 2022

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο β αιμολυτικός στρεπτόκοκκος ομάδας Β (GBS) ή *Streptococcus agalactiae* αποτελεί σημαντικό αίτιο διεισδυτικής λοίμωξης σε νεογνά, μικρά βρέφη και εγκύους. Ο βασικότερος παράγοντας κινδύνου είναι ο αποικισμός της εγκύου με το παθογόνο. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να εκτιμηθεί η συχνότητα αποικισμού των εγκύων, η πιθανή συσχέτιση του αποικισμού με παράγοντες κινδύνου και να μελετηθεί η ευαισθησία των απομονωθέντων στελεχών στα αντιβιοτικά. Έγινε συλλογή 490 δειγμάτων κολπικού και ορθικού επιχρίσματος και μετά από καλλιέργεια προέκυψε πως 8% των εγκύων ήταν αποικισμένες με GBS. Όλα τα στελέχη ήταν ευαίσθητα στην πενικιλίνη, ενώ η ευαισθησία σε ερυθρομυκίνη και κλινδαμυκίνη ήταν 77% και 79,5% αντίστοιχα. Σε 17 από τα απομονωθέντα στελέχη GBS διενεργήθηκε μοριακή τυποποίηση και καθορίστηκε ο τύπος αλληλούχισης (ST). Πέντε στελέχη ανήκαν στον ST1, από τρία στελέχη στον ST23, τον ST19 και τον ST8 και ένα στέλεχος στον ST17. Οι παραπάνω STs αναφέρονται στη βιβλιογραφία ως οι συχνότερα ευρισκόμενοι στον αποικισμό των εγκύων και στη διεισδυτική νεογνική λοίμωξη από GBS.

ABSTRACT

Group B streptococcus (GBS) or *Streptococcus agalactiae* is a major cause of invasive disease in neonates, young infants and pregnant women. The most important risk factor is colonization of pregnant women with GBS. The aim of the present study was to estimate the prevalence GBS colonization in pregnant women in our area, examine the rate of resistance to antibiotics and also the possible association of colonization with risk factors. 490 vaginal and rectal specimens were collected from pregnant women and cultured. The GBS colonization rate was 8%. All strains were susceptible to penicillin, while susceptibility to erythromycin and clindamycin was 77% and 79.5%, respectively. A total of 17 isolated GBS strains were molecularly typed to sequence types (STs). Five of GBS strains were identified as ST1, three as ST23, three as ST19, three ST8 and one as ST17. All STs mentioned above are reported in the literature as the most frequent in maternal colonization and neonatal GBS disease.

Στη διενέργεια και ολοκλήρωση της παρούσας μελέτης, καθοριστική ήταν η συμβολή των παρακάτω συνεργατών και τμημάτων, τους οποίους θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά.

Μποζαβούτογλου Ελισάβετ, Βιοπαθολόγος- Κλινικός Μικροβιολόγος, Διευδύντρια ΕΣΥ, Μικροβιολογικό Εργαστήριο νοσοκομείου Παιδών Παναγιώτη & Αγλαΐας Κυριακού

Λεμπέση Ευαγγελία, Βιοπαθολόγος- Κλινικός Μικροβιολόγος, Διευδύντρια Μικροβιολογικού Τμήματος νοσοκομείου Παιδών Παναγιώτη & Αγλαΐας Κυριακού

Θεοδωρά Μαριάννα, Επίκουρος Καθηγήτρια Εμβρυομητρικής και Περιγεννητικής Ιατρικής, Α΄ Μαιευτική – Γυναικολογική Κλινική ΕΚΠΑ

Λουτράδης Δημήτριος, Καθηγητής Μαιευτικής- Γυναικολογίας ΕΚΠΑ

Γεωργαντζή Σοφία, Μαΐα ΓΝΑ Αλεξάνδρα, RM, MSc, PhDc

Σίνδος Μιχαήλ, Μαιευτήρας- Γυναικολόγος, Διευθυντής ΕΣΥ, ΓΝΑ Αλεξάνδρα

Πετεινάκη Ευθυμία, Καθηγήτρια Ιατρικής Βιοπαθολογίας- Κλινικής μικροβιολογίας Παν/μίου Θεσσαλίας, Ιατρικό τμήμα, Διευδύντρια εργαστηρίου Βιοπαθολογίας ΠΓΝ Λάρισας

Τσιλιπουνιδάκη Αικατερίνη, Βιοχημικός, Ακαδημαϊκή Υπότροφος εργαστηρίου Βιοπαθολογίας ΠΓΝ Λάρισας

†Γαβρίλη Σταυρούλα, Παιδίατρος- Νεογνολόγος

Η συλλογή των δειγμάτων έγινε στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Αλεξάνδρα».

Οι καλλιέργειες των δειγμάτων και τα αντιβιογράμματα των στελεχών πραγματοποιήθηκαν στο Μικροβιολογικό εργαστήριο του νοσοκομείου Παιδών «Παναγιώτη & Αγλαΐας Κυριακού».

Η μοριακή τυποποίηση των στελεχών σε τύπους αλληλουχίας (sequence types, STs) πραγματοποιήθηκε στο Μικροβιολογικό εργαστήριο του ΠΓΝ Λάρισας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την επιβλέπουσα της μελέτης, Καθηγήτρια Παιδιατρικής- Λοιμωξιολογίας κα Τσολιά Μαρία για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγησή της.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	5
2. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	5
2.1 Μικροβιολογία.....	5
2.2 Αποικισμός.....	6
2.3 Επιδημιολογία.....	6
2.4 Νοσηρότητα στην έγκυο.....	7
2.5 Μετάδοση.....	7
2.6 Νοσηρότητα στο νεογνό.....	8
2.7 Μέθοδοι πρόληψης.....	9
2.8 Απομόνωση του παθογόνου.....	10
2.9 Χημειοπροφύλαξη.....	11
3. ΣΚΟΠΟΣ.....	13
4. ΥΛΙΚΟ.....	13
5. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	14
5.1 Λήψη και μεταφορά δείγματος.....	14
5.2 Επεξεργασία δείγματος.....	14
6. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ..	16
6.1 Αποτελέσματα ερωτηματολογίου.....	16
6.2 Ευαισθησία στα αντιβιοτικά.....	19
6.3 Μοριακή τυποποίηση.....	19
7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	20
8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	24
9. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	25
10. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	33

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο β αιμολυτικός στρεπτόκοκκος ομάδας Β (GBS) ή *Streptococcus agalactiae*, αποτελεί βασικό αίτιο πρώιμης νεογνικής νόσου και όψιμης νόσου σε μικρά βρέφη. Μπορεί ακόμη να προκαλέσει λοίμωξη σε ευάλωτες ομάδες ενηλίκων και συγκεκριμένα σε εγκύους, λεχωίδες, ηλικιωμένους και ανοσοκατεσταλμένα άτομα. Επίσης σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο προωρότητας και γέννηση θνησιγενούς εμβρύου. Ο αποικισμός των εγκύων με GBS είναι ο κύριος παράγων κινδύνου για διεισδυτική λοίμωξη στην έγκυο και τα νεογνά. Ο εντοπισμός των εγκύων που είναι αποικισμένες με το παθογόνο και η χορήγηση αντιβιοτικής προφύλαξης κατά τον τοκετό είναι μέχρι στιγμής ο μόνος τρόπος πρόληψης της πρώιμης νεογνικής λοίμωξης και ο λόγος μείωσης της επίπτωσής της τα τελευταία έτη. Για την όψιμη νόσο των μικρών βρεφών και τη νοσηρότητα στις εγκύους και τις υπόλοιπες ευάλωτες ομάδες του ενήλικου πληθυσμού από τον GBS δεν υπάρχει ακόμη μέσο πρόληψης. Για το λόγο αυτό, αποτελεί μεγάλη πρόκληση η ανάπτυξη αποτελεσματικού εμβολίου έναντι του παθογόνου. Η παρούσα μελέτη είχε ως σκοπό τον υπολογισμό της συχνότητας αποικισμού με τον GBS των εγκύων στην Αθήνα, καθώς και πιθανών παραγόντων κινδύνου, μέσω συμπλήρωσης ερωτηματολογίου και συλλογής κολπικών και ορθικών δειγμάτων από εγκύους.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Μικροβιολογία

Ο β αιμολυτικός στρεπτόκοκκος ομάδας Β (GBS) είναι ένας gram θετικός, καταλάση αρνητικός, μικροοργανισμός, που εμφανίζεται στη gram χρώση ως κόκκοι σε ζεύγη και αλυσίδες. Βάσει ενός καψιδικού πολυσακχαρίτη, διακρίνεται σε δέκα γνωστούς οροτύπους Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX (ταξινόμηση κατά Lancefield).¹ Ο δέκατος ορότυπος, IX, περιεγράφηκε μόλις το 2007.

Πρώτη φορά διαφοροποιήθηκε από τους υπόλοιπους στρεπτόκοκκους από τη Lancefield το 1930, αφού τον απομόνωσε από το γάλα βοοειδών με μαστίτιδα². Η Lancefield περιέγραψε πρώτη φορά τον αποικισμό του κόλπου με τον β αιμολυτικό στρεπτόκοκκο ομάδας Β, σε ασυμπτωματικές γυναίκες, όμως η παθογένεια του βακτηρίου πιθανολογήθηκε το 1938, μετά από

αναφορές για θανατηφόρες λοιμώξεις κατόπιν του τοκετού³. Παρόλα αυτά η διεισδυτική νόσος λόγω GBS σπάνια αναγνωριζόταν μέχρι το 1960 όταν και υπήρξαν αυξημένες αναφορές για διεισδυτικές λοιμώξεις σε ενήλικες και νεογνά⁴.

Αποικισμός

Ο GBS αποτελεί μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του κόλπου, της περιουρηθρικής περιοχής και της πεπτικής οδού σε περίπου 20-30% των γυναικών. Ο πεπτικός σωλήνας θεωρείται το πρωτεύον ρεζερβουάρ του παθογόνου και είναι πιθανώς η πηγή του κολπικού αποικισμού⁵.

Ο GBS από συμβιωτικό μέλος της φυσιολογικής χλωρίδας μπορεί να μετατραπεί σε αίτιο διεισδυτικής λοίμωξης σε νεογνά, μικρά βρέφη και εγκύους. Σπανιότερα μπορεί να προκαλέσει λοίμωξη σε ηλικιωμένους ή ανοσοκατεσταλμένους ενήλικες.

Ως αποικισμός των εγκύων με τον GBS ορίζεται η ανεύρεση του βακτηρίου σε καλλιέργεια κολπικού ή/και ορθικού επιχρίσματος, σε οποιαδήποτε ηλικία της κύησης, σε ασυμπτωματική έγκυο. Ανάπτυξη του βακτηρίου σε καλλιέργεια ούρων, σε οποιαδήποτε συγκέντρωση, συνεπάγεται όχι μόνο αποικισμό αλλά και σημαντική φορεία⁶. Ο αποικισμός μπορεί να είναι διαλείπων, παροδικός ή επίμονος, με το 17%-28% των εγκύων που είναι αποικισμένες στο πρώτο τρίμηνο, να συνεχίζουν να είναι αποικισμένες στο δεύτερο και τρίτο τρίμηνο της κύησης⁷.

Επιδημιολογία

Η συχνότητα του αποικισμού των εγκύων με GBS ποικίλλει σε παγκόσμια κλίμακα, με την πλειοψηφία των εκτιμήσεων να κυμαίνεται από 5% έως 30%. Πρόσφατη ανασκόπηση εκτιμά ότι περίπου 18% των εγκύων παγκοσμίως είναι αποικισμένες με το συγκεκριμένο παθογόνο⁸, με σημαντική περιοχική διακύμανση. Το 98% των αποικισμών και το 97% των διεισδυτικών νεογνικών λοιμώξεων είναι με στελέχη οροτύπων I-V. Το 25% των στελεχών αποικισμού και το 62% των στελεχών που προκαλούν νεογνική/ βρεφική λοίμωξη, ανήκουν στον ορότυπο III^{8,9}. Από δεδομένα επιτήρησης στις ΗΠΑ από το 2006 έως το 2015, το 93,1% των περιστατικών πρώιμης νεογνικής νόσου από GBS αποδόθηκε στους οροτύπους Ia (27,3%), III (27,3%), II (15,6%), V (14,2%) και Ib (8,8%). Από τα ίδια δεδομένα, τα περιστατικά όψιμης νεογνικής νόσου αποδόθηκαν στους οροτύπους III (56,2%), Ia (20%), V (8,3%), IV (6,2%) και Ib (6,1%)¹⁰.

Νοσηρότητα στην έγκυο

Στις εγκύους ο GBS αποτελεί σημαντικό αίτιο νοσηρότητας. Μελέτη στις ΗΠΑ που συνέκρινε την επίπτωση της διεισδυτικής λοίμωξης από GBS σε εγκύους και μη εγκύους, ανέδειξε διπλάσια επίπτωση της νόσου κατά την εγκυμοσύνη¹. Παγκοσμίως, η επίπτωση της συστηματικής διηθητικής λοίμωξης από GBS σε εγκύους υπολογίζεται σε 0,38 περιπτώσεις ανά 1.000 εγκυμοσύνες με ποσοστό θνησιμότητας που κυμαίνεται στο 0,2%¹². Ο GBS κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης μπορεί να προκαλέσει μικροβιαμία, ουρολοίμωξη, χοριοαμνιονίτιδα, ενώ έχει σχετιστεί με αυξημένη πιθανότητα για αποβολή, πρόωρο τοκετό και γέννηση θνησιγενούς εμβρύου. Λοίμωξη μπορεί να προκαλέσει και μετά τον τοκετό, στις λεχωίδες, και συγκεκριμένα, ενδομητρίτιδα, επιλόχειο σήψη, μαστίτιδα και μετεγχειρητική λοίμωξη τραύματος^{13,14}. Σε πρόσφατη μελέτη βρέθηκε ότι έγκυες αποικισμένες με τον GBS είχαν σχετικό κίνδυνο 1,21 για πρόωρο τοκετό, σε σχέση με εγκύους που δεν ήταν αποικισμένες. Ακόμη μεγαλύτερος βρέθηκε ο κίνδυνος για εγκύους με GBS βακτηριουρία¹⁵.

Ανεύρεση του GBS στα ούρα σε οποιοδήποτε τρίμηνο της εγκυμοσύνης και σε οποιαδήποτε συγκέντρωση, έχει σχετιστεί με βαρύτερη φορεία του βακτηρίου. Θεραπεία με από του στόματος αντιβιοτικά χορηγείται μόνο όταν η συγκέντρωση του παθογόνου είναι $\geq 10^5$ / ml, καθώς αυτή η συγκέντρωση έχει σχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο προωρότητας και ενδομήτριας καθυστέρησης της αύξησης¹⁶.

Μετάδοση

Οι έγκυες που είναι αποικισμένες με GBS μπορούν να μεταδώσουν το βακτήριο στο έμβryo πριν ή κατά τη διάρκεια του τοκετού. Αυτό συμβαίνει κυρίως είτε λόγω ρήξης των εμβρυικών υμένων είτε καθώς διέρχεται το έμβryo μέσω του κόλπου κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού τοκετού. Το παθογόνο μπορεί επίσης να μεταδοθεί οριζόντια, μέσω της κοπρανο-στοματικής οδού, από τη μητέρα ή άλλους φροντιστές του νεογνού. Περιγράφονται περιστατικά λοίμωξης με GBS σε δηλάζοντα βρέφη, όπου έχει απομονωθεί το παθογόνο σε καλλιέργεια μητρικού γάλατος. Παρόλα αυτά, η ύπαρξη αντισωμάτων έναντι του GBS στο μητρικό γάλα, ασκεί προστατευτική δράση έναντι της νόσησης του βρέφους. Έτσι, παραμένει αμφιλεγόμενο, το κατά πόσον η ύπαρξη του παθογόνου στο μητρικό γάλα σχετίζεται μόνο με βαρύτερη φορεία της μητέρας και του βρέφους ή συμβάλει στην εκδήλωση λοίμωξης¹⁶.

Νοσηρότητα στο νεογνό

Στα νεογνά ο GBS αποτελεί κυρίαρχο λοιμώδη παράγοντα νοσηρότητας και θνητότητας, καθώς είναι από τα συχνότερα αίτια βακτηριακής λοίμωξης σε αυτή την ηλικιακή ομάδα. Με βάση την ηλικία νόσησης, μπορεί να προκαλέσει πρώιμη νεογνική νόσο (EOD), που ορίζεται ως η λοίμωξη με GBS που εμφανίζεται την πρώτη εβδομάδα ζωής (1^η -6^η ημέρα ζωής), όψιμη νεογνική νόσο (LOD), λοίμωξη από την 7^η ημέρα έως τον 3^ο μήνα ζωής ή, σπανίως, πολύ όψιμη νεογνική νόσο (LLOD), λοίμωξη δηλαδή σε βρέφη μεγαλύτερα των τριών μηνών. Η πολύ όψιμη νεογνική νόσος απαντάται συνήθως σε περιπτώσεις προωρότητας, ιδίως σε ηλικία κύησης \leq 34 εβδομάδων, ή ανοσοκαταστολής¹⁶.

Ως GBS πρώιμη νεογνική νόσος ορίζεται η ανάπτυξη του παθογόνου σε καλλιέργεια αίματος, εγκεφαλονωτιαίου υγρού ή άλλου φυσιολογικά στείρου υλικού, τις πρώτες έξι ημέρες ζωής. Η επίπτωση της πρώιμης νεογνικής νόσου στις ΗΠΑ υπολογίζεται στα 0,23 περιστατικά ανά 1000 γεννήσεις ζώντων νεογνών¹⁶. Από το σύνολο των περιστατικών μικροβιολογικά επιβεβαιωμένης πρώιμης νεογνικής νόσου, ο GBS είναι το αίτιο στο 45% των περιστατικών μεταξύ τελειόμηνων νεογνών και στο 25% στα πρόωρα νεογνά. Ο κύριος παθογενετικός μηχανισμός της πρώιμης νεογνικής νόσου από GBS είναι ο αποικισμός της μήτρας μέσω μετακίνησης του παθογόνου από το ουρογεννητικό ή/ και το πεπτικό σύστημα της εγκύου, δια της ανιούσας οδού. Η λοίμωξη προκύπτει από επακόλουθο αποικισμό και μόλυνση του εμβρύου ή μέσω εισρόφησης από το έμβρυο μολυσμένου αμνιακού υγρού¹⁷. Η EOD μπορεί να εκδηλωθεί ως μικροβαιμία (80%), πνευμονία (10%) και σπανιότερα ως μηνιγγίτιδα (7%), ενώ η θνητότητα κυμαίνεται στο 15%. Τα συμπτώματα εκδηλώνονται συνήθως τις πρώτες 12 με 24 ώρες ζωής. Από την Επιτήρηση Βακτηριακών Λοιμώξεων στις ΗΠΑ (Active Bacterial Core Surveillance, ABCs) την περίοδο 2006 έως 2015, προκύπτει πως το 94,7% των περιστατικών της GBS EOD διαγνώστηκαν τις πρώτες 48 ώρες ζωής. Θάνατοι λόγω πρώιμης νεογνικής νόσου από τον GBS καταγράφονται κυρίως μεταξύ των πρόωρων νεογνών. Η θνητότητα στα τελειόμηνα νεογνά κυμαίνεται στο 2,1% ενώ στα νεογνά με ηλικία κύησης $<$ 37 εβδομάδων στο 19,2%¹⁷.

Ως όψιμη νεογνική νόσος (Late Onset Disease, LOD) από GBS ορίζεται η απομόνωση του παθογόνου από φυσιολογικά στείρο σημείο από την 7^η έως 89^η ημέρα ζωής. Σπάνια, πολύ όψιμη νόσος GBS (Very Late Onset Disease, VLOD) εκδηλώνεται μετά τον τρίτο μήνα ζωής, κυρίως σε βρέφη που γεννήθηκαν πολύ πρόωρα ή είναι ανοσοκατεσταλμένα. Μέσος όρος του χρόνου εκδήλωσης της LOD είναι οι 34 ημέρες ζωής. Η επίπτωση της όψιμης νεογνικής νόσου στις ΗΠΑ υπολογίζεται στα 0,31 περιστατικά ανά 1000 γεννήσεις ζώντων νεογνών. Το 40%-50% των περιστατικών LOD εκδηλώνεται μεταξύ βρεφών με

ηλικία κύησης < 37 εβδομάδων. Η μόλυνση με τον GBS στη LOD θεωρείται πως γίνεται μέσω της οριζόντιας οδού, δηλαδή μέσω της κοπρανοστοματικής οδού, από τα χέρια της μητέρας ή άλλων φροντιστών του βρέφους. Έχουν περιγραφεί περιστατικά LOD σε δηλάζοντα βρέφη, και απομόνωση του παθογόνου στο μητρικό γάλα, θέτοντας την υποψία ο δηλασμός να αποτελεί μέσο μόλυνσης. Η LOD εκδηλώνεται ως μικροβιαμία (65%), μηνιγγίτιδα (30%) και σπανιότερα ως αρθρίτιδα, οστεομυελίτιδα ή πνευμονία, με θνητότητα περί το 6%¹⁴. Οι συχνότεροι ορότυποι του παθογόνου που προκαλούν νόσο στα νεογνά είναι ο Ia και III⁵. Η θνητότητα της όψιμης νεογνικής νόσου είναι σχεδόν διπλάσια στα πρόωρα (ηλικία κύησης < 37 εβδομάδων) σε σχέση με τα τελειόμηνα νεογνά (7,8% έναντι 3,4% αντίστοιχα)¹⁴.

Κύριος παράγων κινδύνου για πρόιμη νεογνική νόσο με GBS είναι ο αποικισμός της επιτόκου με το παθογόνο. Συγκεκριμένα, 50% των νεογνών που θα γεννηθούν από μητέρες αποικισμένες, οι οποίες δε θα λάβουν χημειοπροφύλαξη κατά τον τοκετό, θα είναι επίσης αποικισμένα. Το 1%- 2% των αποικισμένων νεογνών θα εκδηλώσει EOD^{10,18}. Λοιποί παράγοντες κινδύνου για GBS EOD είναι η προωρότητα (ηλικία κύησης <37 εβδομάδων), το πολύ χαμηλό βάρος γέννησης (<1500 gr), η παρατεταμένη ρήξη μεμβρανών, συμπτώματα χοριοαμνιονίτιδας, προηγούμενο νεογνό που εκδήλωσε GBS EOD¹⁹⁻²¹.

Μέθοδοι πρόληψης

Τα παραπάνω δεδομένα καθιστούν σαφή την ανάγκη εντοπισμού των αποικισμένων ασυμπτωματικών εγκύων, με σκοπό τη χορήγηση χημειοπροφύλαξης κατά τον τοκετό και την αποφυγή αποικισμού και νόσησης του νεογνού.

Στα μέσα της δεκαετίας του 1980, κλινικές δοκιμές και μελέτες παρατήρησης, καταδείκνυαν πως η χορήγηση ενδοφλέβιων αντιβιοτικών κατά τον τοκετό σε γυναίκες αυξημένου κινδύνου για μετάδοση του παθογόνου στα νεογνά τους, μπορούσε να εμποδίσει τη διεισδυτική λοίμωξη κατά την πρώτη εβδομάδα ζωής^{22, 23}. Οι πρώτες κατευθυντήριες οδηγίες σχετικά με την πρόληψη της περιγεννητικής λοίμωξης από τον *β* αιμολυτικό στρεπτόκοκκο ομάδας B εκδόθηκαν το 1996 από το Κέντρο Ελέγχου Λοιμώξεων (CDC) και το Αμερικανικό Κολλέγιο Μαιευτήρων και Γυναικολόγων (ACOG) και ακολούθησε το 1997 η Αμερικανική Παιδιατρική Ακαδημία (AAP). Συστηνόταν είτε η λήψη καλλιέργειας κολπικού και ορδικού επιχρίσματος καθολικά (screening strategy) ώστε να εντοπίζονται οι φορείς και να χορηγείται χημειοπροφύλαξη στον τοκετό, είτε η χορήγηση χημειοπροφύλαξης σε εγκύους που είχαν παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση πρόιμης νεογνικής νόσου στα νεογνά τους,

χωρίς να έχει προηγηθεί έλεγχος αποικισμού με καλλιέργεια (risk-based strategy).

Το 2002 πλέον προτάθηκε από ACOG και CDC ο καθολικός προσυμπτωματικός έλεγχος των εγκύων με λήψη καλλιέργειας από κόλπο και ορθό την 35^η έως 37^η εβδομάδα κύησης, καθώς αυτή η στρατηγική φάνηκε πως υπερτερεί στη μείωση των περιστατικών πρώιμης νεογνικής νόσου από GBS. Αυτή η μέθοδος πρόληψης συστήνεται εκτός των ΗΠΑ και σε Ισπανία, Γαλλία, Βέλγιο, Γερμανία, Ελβετία και στη χώρα μας. Ηνωμένο Βασίλειο και Ολλανδία χορηγούν χημειοπροφύλαξη με βάση τους παράγοντες κινδύνου για EOD (risk based strategy).

Η σημαντική μείωση της επίπτωσης της νόσου από τον GBS συνέπεσε με την έναρξη των μέτρων προφύλαξης, ενώ περαιτέρω μείωση σημειώθηκε με την έκδοση της σύστασης για καθολικό προγεννητικό προσυμπτωματικό έλεγχο το 2002. Συγκεκριμένα, τα παραπάνω μέτρα είχαν ως αποτέλεσμα τη μείωση της επίπτωσης της GBS EOD στις ΗΠΑ, από 1,7 περιστατικά /1000 ζώντα νεογνά στις αρχές της δεκαετίας του 1990 σε 0,23 περιστατικά/ 1000 ζώντα νεογνά το 2015⁸.

Αξιόπιστο θεωρείται το αποτέλεσμα της καλλιέργειας κόλπου/ ορθού που έχει ληφθεί εντός 5 εβδομάδων από την ημερομηνία του τοκετού^{24,25}. Οι τελευταίες οδηγίες των ACOG και AAP μετατοπίζουν το χρονικό διάστημα του ελέγχου στις 36 με 38 εβδομάδες κύησης, καθώς στις ΗΠΑ μόλις 1,9% των εγκύων γεννούν κατά τη διάρκεια της 35^{ης} εβδομάδας, σε σύγκριση με το 6,7% των εγκύων που γεννούν σε ηλικία κύησης 40 0/7 και έπειτα⁶.

Η λήψη καλλιεργείων κόλπου και ορθού συστήνεται καθολικά, σε όλες τις εγκύους, ανεξάρτητα από τον προγραμματισμένο τρόπο τοκετού. Εξαιρέση μπορούν να αποτελέσουν γυναίκες με GBS βακτηριουρία, ανευρεθείσα σε οποιοδήποτε στάδιο της κύησης, ή με προηγούμενο νεογνό με GBS EOD, καθώς σ' αυτές τις περιπτώσεις είναι προδιαγεγραμμένη η χορήγηση χημειοπροφύλαξης κατά τον τοκετό. Η προγραμματισμένη καισαρική τομή δεν επιτρέπει τη μη διενέργεια προγεννητικού ελέγχου για GBS, καθώς μπορεί να προηγηθεί ρήξη των εμβρυικών μεμβρανών και μετάδοση του παθογόνου στο έμβryo.

Απομόνωση του παθογόνου

Η καλλιέργεια του δείγματος παραμένει έως σήμερα η gold standard μέθοδος για την απομόνωση του παθογόνου. Το βήμα- κλειδί αυτής της εξέτασης είναι η επώαση του δείγματος σε εμπλουτιστικό ζυμό, πριν τον ενοφθαλμισμό του στο καλλιεργητικό άγαρ. Κατ' αυτό τον τρόπο μεγιστοποιείται η πιθανότητα

απομόνωσης του παθογόνου²⁶. Εναλλακτική μέθοδος που εφαρμόζεται στα μικροβιολογικά εργαστήρια είναι αυτή της ανίχνευσης/ ενίσχυσης νουκλεϊκού οξέος (Nucleic Acid Amplification Test). Όταν εφαρμόζεται σε υλικό που έχει ήδη υποστεί τη διαδικασία επώασης στον εμπλουτιστικό ζωμό για 18-24 ώρες, το αποτέλεσμα θεωρείται το ίδιο ή και πιο αξιόπιστο σε σχέση με την καλλιέργεια^{29,30}. Η μέθοδος NAAT μειονεκτεί στο ότι δεν απομονώνει τον μικροοργανισμό και έτσι δεν μπορεί να γίνει τεστ ευαισθησίας στα αντιβιοτικά.

Η μέθοδος NAAT μπορεί να εφαρμοστεί και ως γρήγορο τεστ ανίχνευσης του GBS (point-of-care test) προ της έναρξης του τοκετού σε γυναίκες με άγνωστο GBS στάτους. Σημαντικό πλεονέκτημα αποτελεί η ταχύτητα διεκπεραίωσης της εξέτασης, καθώς το αποτέλεσμα είναι διαθέσιμο σε μία με δύο ώρες. Λόγω παράβλεψης του σταδίου επώασης όμως, η ευαισθησία της εξέτασης μειώνεται και υπολογίζεται ένα ποσοστό λάθους της τάξης 7%-10%^{29,30}.

Χημειοπροφύλαξη

Χορήγηση χημειοπροφύλαξης έναντι του GBS κατά τον τοκετό συστήνεται σε όλες τις εγκύους που στην παρούσα κύηση έχουν θετική καλλιέργεια κολπικού/ορδικού επιχρίσματος ή βακτηριουρία (ανεξαρτήτως του αριθμού αποικιών στην καλλιέργεια ούρων) , και σε όσες έχουν ιστορικό με προηγούμενο τοκετό νεογνού με GBS λοίμωξη. Σε περιπτώσεις που κατά την έναρξη του τοκετού δεν είναι γνωστό το προφίλ αποικισμού της επιτόκου, προφύλαξη για τον GBS δίδεται στις εξής περιπτώσεις: ηλικία κύησης <37 (συμπληρωμένες) εβδομάδες, παρατεταμένη ρήξη εμβρυικών υμένων (>18 ώρες), θερμοκρασία >38°C κατά τον τοκετό, γνωστός αποικισμός με GBS σε προηγούμενη κύηση.

Η προφυλακτική δόση του αντιβιοτικού ιδανικά πρέπει να χορηγείται τέσσερις ώρες προ του τοκετού. Χορήγηση ακόμη και δύο ώρες πριν τον τοκετό εντούτοις, μειώνει σημαντικά το φορτίο αποικισμού της επιτόκου και τη συχνότητα κλινικής εκδήλωσης λοίμωξης στο νεογνό⁶.

Τα αντιβιοτικά πρώτης επιλογής για την πρόληψη της νόσου από GBS είναι η πενικιλίνη G και η αμπικιλίνη. Η πενικιλίνη G που χορηγείται στη μητέρα διαπερνά εύκολα τον πλακούντα και εντός μίας ώρας φτάνει στη μέγιστη συγκέντρωσή της στον ομφάλιο λώρο, ενώ τέσσερις ώρες μετά η συγκέντρωση μειώνεται, αντανakλώντας την απομάκρυνσή της από τους νεφρούς του εμβρύου προς το αμνιακό υγρό. Η αμπικιλίνη ανιχνεύεται στον ομφάλιο λώρο 30 λεπτά μετά τη χορήγησή της στη μητέρα και στο αμνιακό υγρό 45 λεπτά μετά. Η πενικιλίνη G έχει πιο στενό αντιμικροβιακό φάσμα και γι' αυτό προτιμάται, αλλά η αμπικιλίνη είναι εξίσου αποδεκτή εναλλακτική επιλογή. Η χορήγηση του αντιβιοτικού πρέπει να γίνεται ενδοφλέβια. Η χορήγηση από το

στόμα ή ενδομυϊκά δε θεωρείται το ίδιο αποτελεσματική, καθώς δεν εκριζώνει τη μικροβιοφορία και δεν προλαμβάνει τη νεογνική νόσο. Το δοσολογικό σχήμα για την πενικιλίνη είναι 5×10^6 IU αρχικά και μετά $2,5-3 \times 10^6$ IU ανά 4 ώρες έως τον τοκετό και για την αμπικιλίνη 2 g αρχικά και μετά 1 g/ 4 ώρες έως τον τοκετό. Σε περιπτώσεις αναφερόμενης αλλεργίας της εγκύου στην πενικιλίνη, εκτιμάται ο κίνδυνος για αναφυλακτική αντίδραση. Αν η επίτοκος θεωρείται χαμηλού κινδύνου για αναφυλαξία, χορηγείται κεφαλοσπορίνη 1^{ης} γενιάς, η κεφαζολίνη. Χαμηλού κινδύνου θεωρούνται οι έγκυες που αναφέρουν ιστορικό με μη ειδική, μη ενδεικτική αλλεργικής αντίδρασης συμπτωματολογία μετά από χορήγηση πενικιλίνης, όπως γαστρεντερικές διαταραχές και κεφαλαλγία, εξάνθημα μη κνιδωτικό που δεν συνοδεύεται από συστηματικά συμπτώματα, επεισόδιο κνησμού αλλά χωρίς εξάνθημα, οικογενειακό αλλά όχι ατομικό ιστορικό αλλεργίας στην πενικιλίνη. Αν η έγκυος θεωρείται υψηλού κινδύνου για επεισόδιο αναφυλαξίας, είναι σημαντικό να γνωρίζουμε το προφίλ ευαισθησίας του παθογόνου για να αποφασίσουμε ποιο θα είναι το αντιβιοτικό που θα χορηγηθεί ως χημειοπροφύλαξη. Υψηλού κινδύνου για αναφυλαξία είναι άτομα που εντός λίγων ωρών από τη χορήγηση πενικιλίνης ή κεφαλοσπορίνης εμφάνισαν συμπτώματα ενδεικτικά άμεσου τύπου IgE μεσολαβούμενης αντίδρασης, δηλαδή κνιδωτικό εξάνθημα (πομφούς), κνησμώδες εξάνθημα, αγγειοίδημα, πτώση της αρτηριακής πίεσης ή αναπνευστική δυσχέρεια. Επίσης, ιστορικό σοβαρής μη IgE μεσολαβούμενης αντίδρασης στην πενικιλίνη, όπως DRESS (Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms), σύνδρομο Steven Johnson ή τοξική επιδερμική νεκρόλυση αποτελούν αντένδειξη χορήγησής της. Εφόσον υπάρχει δυνατότητα, συστήνεται να γίνεται κατά τη διάρκεια της κύησης τεστ για αλλεργία στην πενικιλίνη, όταν αυτή πιθανολογείται από το ιστορικό της εγκύου. Εφόσον ο GBS είναι ευαίσθητος, πρώτη επιλογή είναι η κλινδαμυκίνη, ενώ επί αντοχής στην κλινδαμυκίνη, συστήνεται η χορήγηση βανκομυκίνης⁶.

Παρά τη μείωση της επίπτωσης της πρώιμης νεογνικής νόσου με την εφαρμογή των παραπάνω μέτρων, ο GBS συνεχίζει να αποτελεί συχνό αίτιο νοσηρότητας και θνητότητας νεογνών και μικρών βρεφών στις χώρες χαμηλού και μέσου εισοδήματος, όπου οι οδηγίες δεν είναι εύκολα εφαρμόσιμες. Επίσης, η εκδήλωση της όψιμης νεογνικής νόσου δεν επηρεάζεται από τη χορήγηση χημειοπροφύλαξης κατά τον τοκετό, οπότε η επίπτωσή της τα τελευταία χρόνια έχει παραμείνει σταθερή. Επιπρόσθετα, η ευρεία προφυλακτική χορήγηση αντιβιοτικών εγείρει ανησυχίες τόσο σχετικά με την ανάπτυξη αντοχής στα αντιβιοτικά³¹ όσο και με την επίδραση στο μικροβίωμα του νεογέννητου³².

Τα παραπάνω καθιστούν σημαντική την προσπάθεια των τελευταίων ετών για κυκλοφορία αποτελεσματικού εμβολίου για τον β αιμολυτικό στρεπτόκοκκο ομάδα B, ώστε να προλαμβάνονται η πρώιμη και όψιμη νεογνική νόσος, καθώς

και η νοσηρότητα στις εγκύους και στις υπόλοιπες ευάλωτες ομάδες του ενήλικου πληθυσμού.

Η γνώση ότι τα μητρικά IgG αντικαψιδικά αντισώματα είναι βασικός παράγοντας παρεμπόδισης της διεισδυτικής νόσου από GBS στα νεογνά, διατυπώθηκε ήδη από τη δεκαετία του 1970³³ και κατέδειξε πως θα ήταν εφικτή η ανάπτυξη ενός εμβολίου για τις εγκύους που θα στόχευε ένα καψιδικό αντιγόνο του παθογόνου, για την προφύλαξη των νεογνών από τη νόσο. Σήμερα, η κύρια προσέγγιση είναι η δημιουργία ενός πολυδύναμου πολυσακχαριδικού εμβολίου, συζευγμένο με πρωτεΐνη, που στοχεύει την πλειοψηφία των υπεύθυνων για διεισδυτική νόσο οροτύπων (τρεις έως έξι ορότυποι)³⁴. Η εναλλακτική προσέγγιση είναι τα εμβόλια πρωτεϊνικών υπομονάδων. Στοχεύοντας σε πρωτεΐνες που υπάρχουν σε όλους τους οροτύπους του GBS, η κάλυψη που θα παρέχουν ίσως υπερέρχει των πολυσακχαριδικών εμβολίων. Οι προσπάθειες για την κυκλοφορία εμβολίου έναντι του GBS βρίσκονται στο στάδιο 2 των κλινικών δοκιμών.

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της μελέτης ήταν η καταγραφή της συχνότητας αποικισμού με τον GBS εγκύων ηλικίας κύησης ≥ 35 εβδομάδων που εξετάστηκαν ή γέννησαν στην Αθήνα. Επίσης, εξετάσθηκε η ευαισθησία του παθογόνου σε αντιβιοτικά που χορηγούνται ως χημειοπροφύλαξη, καθώς και η συσχέτιση της μικροβιοφορίας με πιθανούς παράγοντες κινδύνου.

ΥΛΙΚΟ

Το υλικό της μελέτης περιέλαβε τη συλλογή 490 δειγμάτων κολπικού και ορθικού επιχρίσματος από εγκύους ≥ 35 εβδομάδων που εξετάστηκαν ή γέννησαν στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Αλεξάνδρα», προερχόμενες από κάθε κοινωνικοοικονομικό και μορφωτικό επίπεδο και ανεξαρτήτως καταγωγής και ηλικίας.

Για κάθε δείγμα συμπληρώθηκε ερωτηματολόγιο, στο οποίο καταγράφονται τα δημογραφικά στοιχεία της εγκύου (ηλικία, καταγωγή, μορφωτικό επίπεδο, επάγγελμα, οικογενειακή κατάσταση), το μαιευτικό της ιστορικό (παρούσα και προηγηθείσες κυήσεις), η ύπαρξη χρόνιου νοσήματος, το κάπνισμα και η τυχόν λήψη αντιμικροβιακών φαρμάκων κατά τη διάρκεια του τελευταίου τριμήνου της εγκυμοσύνης.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Λήψη και μεταφορά του δείγματος

Από κάθε έγκυο ελήφθη δείγμα, με τον ίδιο βαμβακοφόρο στυλεό, αρχικά από τον κόλπο (από το κατώτερο τριτημόριό του, περί τα δύο εκατοστά) και έπειτα από το ορθό (μέσω του πρωκτικού σφιγκτήρα, περίπου ένα εκατοστό). Το δείγμα ενοφθαλμιζόταν απευθείας σε υλικό μεταφοράς (Stuart ή Amies) και υποβάλλεται σε επεξεργασία εντός εικοσιτεσσάρων ωρών από τη συλλογή.

Κάθε δείγμα και το αντίστοιχο ερωτηματολόγιο έφερε έναν μοναδικό αύξοντα αριθμό και την ημερομηνία δειγματοληψίας.

Το δείγμα μεταφερόταν στο μικροβιολογικό εργαστήριο, μέσα στο ειδικό σακουλάκι μεταφοράς μολυσματικών βιολογικών δειγμάτων του νοσοκομείου μας που φέρει δύο χωριστές θήκες (μία για το δείγμα και μία για το παραπεμπτικό).

Επεξεργασία Δείγματος

α. Καλλιέργεια δείγματος

Το δείγμα πρώτα ενοφθαλμιζεται σε εμπλουτιστικό ζωμό (Todd- Hewitt + γενταμικίνη 8 µg / ml) και επώαζεται για τουλάχιστον 18 ώρες σε θερμοκρασία 35°C - 37°C σε αερόβιες συνθήκες και κατόπιν καλλιεργείται στα κατάλληλα θρεπτικά υλικά (Columbia CNA + Blood και chromID StreptoB). Το πρώτο επώαζεται σε θερμοκρασία 35°C- 37°C σε περιβάλλον 5% CO₂ και το δεύτερο σε αερόβιες συνθήκες για 24-48 ώρες. Η διαδικασία ενοφθαλμισμού του δείγματος στον εμπλουτιστικό ζωμό είναι σημαντικό να προηγείται της επίστρωσης του δείγματος προς καλλιέργεια, καθώς αυξάνει την πιθανότητα εντοπισμού του παθογόνου έως και στο διπλάσιο^{35, 36}.

Η απομόνωση και ταυτοποίηση των απομονωθέντων στελεχών γίνεται με κλασικές φαινοτυπικές μεθόδους (βιοχημικές και ορολογικές δοκιμές κατά Lancefield). Η φύλαξη των στελεχών θα γίνει σε skim milk στους -80 °C.

6. Έλεγχος ευαισθησίας

Στις καλλιέργειες στις οποίες αναπτύχθηκε ο GBS, έγινε έλεγχος ευαισθησίας του απομονωθέντος στελέχους στα αντιβιοτικά πενικιλίνη, ερυθρομυκίνη και κλινδαμυκίνη, κατά EUCAST. Στα στελέχη με αντοχή στην ερυθρομυκίνη και ευαισθησία στην κλινδαμυκίνη, ακολούθησε έλεγχος επαγόμενης αντοχής (D-test).

γ. Τυποποίηση των στελεχών

Η τυποποίηση των στελεχών βασίστηκε στον χαρακτηρισμό των sequence types (ST) κλώνων. Ο χαρακτηρισμός των STs έγινε με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) χρησιμοποιώντας ήδη γνωστούς εκκινητές, ενώ ακολούθησε στη συνέχεια ανάλυση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας των προϊόντων της PCR.

Η απομόνωση χρωμοσωμικού γενωμικού υλικού (DNA) επιτυγχάνεται συνήθως με μεθόδους που στηρίζονται στη λύση των κυττάρων με το ένζυμο της πρωτεΐνάσης K υπό την παρουσία αιθυλενοδιαμινοτετραοξικού οξέος (EDTA) και ενός ανιονικού απορρυπαντικού διαλύτη. Κατ' αυτό τον τρόπο και στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος απομόνωσης του χρωμοσωμικού DNA σε ρυθμιστικό διάλυμα. Ακολούθησε φύλαξη των δειγμάτων του ληφθέντος DNA στους -20°C για περαιτέρω ανάλυση και ενίσχυση – πολλαπλασιασμό με τη διαδικασία της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR).

Στην παρούσα μελέτη τα στελέχη GBS τυποποιήθηκαν μοριακά με τη μέθοδο MLST (Multi Locus Sequence Typing). Η μέθοδος MLST χρησιμοποιεί, ως μέσο για την ανάλυση της αλληλουχίας DNA, επτά γονίδια βασικού μεταβολισμού, τα οποία εδράζονται στο χρωμόσωμα των βακτηρίων και κωδικοποιούν πρωτεΐνες που συμμετέχουν σε απαραίτητες μεταβολικές αντιδράσεις. Τα γονίδια αυτά, τα οποία αποκαλούνται και γονίδια κυτταρικής οικονομίας ή διατηρημένα γονίδια (housekeeping genes), βρίσκονται σε όλα τα βακτηριακά κύτταρα, δεν υπόκεινται σε πίεση επιλογής και επομένως μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μελέτες τυποποίησης, καθώς και σε μελέτες φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ των στελεχών ενός είδους βακτηρίου.

Σε κάθε στέλεχος τα επτά γονίδια μεταβολισμού του GBS που ανιχνεύονται στη μέθοδο MLST (*adhP*, *pheS*, *atr*, *glnA*, *sdhA*, *glcK*, *tkl*) ενισχύθηκαν με την

τεχνική της PCR. Για κάθε γονίδιο της MLST που διερευνήθηκε παρασκευάστηκαν ξεχωριστά μείγματα αντίδρασης με εκκινητές ειδικούς για το κάθε γονίδιο. Οι συνθήκες αποδιάταξης, αναδιάταξης και επιμήκυνσης ήταν κοινές για όλα τα γονίδια που ανιχνεύθηκαν. Όλες οι αντιδράσεις PCR προγραμματίστηκαν και εκτελέστηκαν σε θερμικό κυκλοποιητή, ενώ η DNA πολυμεράση που χρησιμοποιήθηκε ήταν η Taq DNA πολυμεράση. Η αλληλούχιση του DNA των προϊόντων ενίσχυσης της PCR για MLST πραγματοποιήθηκε σε ειδικό εξωτερικό εργαστήριο. Σε όλα τα υπό μελέτη στελέχη GBS της παρούσας εργασίας ο προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας πραγματοποιήθηκε και στις δύο έλικες των γονιδιακών θραυσμάτων, δηλαδή τόσο από την 5' κατεύθυνση του προϊόντος ενίσχυσης όσο και από την 3' κατεύθυνση, για μεγαλύτερη ακρίβεια.

Μετά την επεξεργασία και τη μελέτη αλληλούχισης των νουκλεοτιδίων κατέστη πλέον γνωστή η ακριβής αλληλουχία καθενός από τα επτά διατηρημένων γονιδίων του τυποποιημένου σχήματος της MLST, για όλα τα υπό μελέτη στελέχη GBS. Στη συνέχεια, για τον καθορισμό των τύπων MLST η αλληλουχία των επτά γονιδίων συγκρίθηκε με τις αντίστοιχες αλληλουχίες αναφοράς της ηλεκτρονικής βάσης δεδομένων της MLST και ανάλογα με τις διαφορές, τους αποδόθηκε ένας αριθμός αλληλόμορφου. Οι επτά αριθμοί που προέκυψαν από τη σύγκριση των αλληλουχιών, αντιστοιχώντας στα επτά γονίδια της MLST, αποτέλεσαν το χαρακτηριστικό αλληλόμορφο προφίλ (allelic profile) για κάθε στέλεχος GBS το οποίο υποβλήθηκε στη βάση δεδομένων της MLST (www.pubmlst.org) και για κάθε μοναδικό συνδυασμό αποδόθηκε ένας αντίστοιχος αριθμός, ο οποίος αποτέλεσε τον τύπο αλληλουχίας (Sequence Type, ST) για κάθε στέλεχος. Μέσω της μεθόδου τυποποίησης MLST, η οποία κατέληξε στον καθορισμό του χαρακτηριστικού τους ST, τα υπό μελέτη στελέχη GBS χαρακτηρίστηκαν με αξιοπιστία και ακρίβεια.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Οι κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως απόλυτες και σχετικές συχνότητες, ενώ οι ποσοτικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέση τιμή και τυπική απόκλιση.

Για τη διερεύνηση σχέσεων μεταξύ δυο κατηγορικών μεταβλητών για ανεξάρτητα δείγματα χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος χ^2 και ο ακριβής έλεγχος Fisher. Για τη διερεύνηση της σχέσης μεταξύ μιας κατηγορικής μεταβλητής και μιας διατάξιμης χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος χ^2 για τάση.

Το αμφίπλευρο επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε ίσο με 0,05. Η ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το IBM SPSS 21.0 (Statistical Package for Social Sciences).

Αποτελέσματα ερωτηματολογίου

Ο μελετώμενος πληθυσμός περιλάμβανε 490 έγκυες. Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των εγκύων παρουσιάζονται στον πίνακα 1. Η μέση ηλικία των εγκύων ήταν 30,8 έτη. Οι περισσότερες έγκυες ήταν ελληνικής καταγωγής (64,7%, N=302), εργαζόμενες (55%, N=269), με ασφαλιστική κάλυψη (61%, N=299) και έγγαμες/σε συμβίωση (86,9%, N=426). Το 52,4% ήταν απόφοιτες δευτεροβάθμιας εκπαίδευσης, το 33,8% ήταν απόφοιτες τριτοβάθμιας εκπαίδευσης και το 14% ήταν απόφοιτες πρωτοβάθμιας εκπαίδευσης.

Τα χαρακτηριστικά της κύησης των εγκύων παρουσιάζονται στον πίνακα 2. Το 63,7% των εγκύων επισκέφτηκαν το ιατρείο για γυναικολογική εξέταση και το 36,3% λόγω έναρξης του τοκετού. Για το 44,1% των εγκύων ήταν ο πρώτος τόκος, στο 36,3% ήταν ο δεύτερος τόκος, στο 12,2% ήταν ο τρίτος τόκος και στο 7,4% ήταν τουλάχιστον ο τέταρτος τόκος. Η μέση ηλικία κύησης ήταν 38,3 εβδομάδες. Ο μέσος αριθμός προηγούμενων επισκέψεων σε γυναικολόγο στην παρούσα κύηση ήταν 7,2, ενώ το 68,2% των εγκύων είχαν επισκεφτεί ≥ 7 φορές τον γυναικολόγο.

Τα κλινικά χαρακτηριστικά των εγκύων περιγράφονται στον πίνακα 3. Από το σύνολο των εγκύων που ελέγξαμε για αποικισμό με GBS, το 8% είχε θετική καλλιέργεια. Στο 64,1% των εγκύων είχε ληφθεί μόνο κολπικό επίχρισμα για GBS στην παρούσα κύηση, στο 3,3% είχε ληφθεί κολπικό και ορθικό και στο

32,6% δεν είχε ληφθεί επίχρισμα. Το 40% των εγκύων είχαν πραγματοποιήσει καλλιέργεια ούρων κατά την κύηση.

Το 4,7% των εγκύων είχε συμπτωματολογία κολπίτιδας στην παρούσα κύηση, το 29,2% είχε παθολογία-επιπλοκή παρούσας κύησης και το 18,4% είχε προηγούμενες αποβολές. Το 6,6% των εγκύων είχε χρόνια νόσημα και το 9% κάπνιζε κατά τη διάρκεια της κύησης. Ποσοστό 11,9% των εγκύων είχε λάβει αντιβιοτικά τους τελευταίους τρεις μήνες.

Η συσχέτιση των δημογραφικών χαρακτηριστικών και του γυναικολογικού-μαιευτικού ιστορικού των εγκύων με το αποτέλεσμα της καλλιέργειας για GBS παρουσιάζονται στον πίνακα 4.

Επειτα από τη διμεταβλητή ανάλυση δεν προέκυψε στατιστική σχέση στο επίπεδο του 0,05 ($p < 0,05$) ανάμεσα στις ανεξάρτητες μεταβλητές και το αποτέλεσμα της καλλιέργειας για GBS. Επισημαίνονται όμως οι παρακάτω σχέσεις που βρέθηκαν:

- Το αποτέλεσμα της καλλιέργειας για GBS ήταν συχνότερα θετικό σε ROMA (14,3%) και στις πρόσφυγες (10,9%) σε σχέση με τις Ελληνίδες (7,3%) και τις μετανάστριες (4,8%).
- Το αποτέλεσμα της καλλιέργειας για GBS ήταν συχνότερα θετικό σε γυναίκες με πρωτοβάθμια εκπαίδευση (13,2%) σε σχέση με γυναίκες τριτοβάθμιας εκπαίδευσης (6,7%).
- Το αποτέλεσμα της καλλιέργειας για GBS ήταν συχνότερα θετικό σε γυναίκες με τουλάχιστον δεύτερο τόκο (9,1%) σε σχέση με πρωτοτόκες γυναίκες (6,5%).
- Το αποτέλεσμα της καλλιέργειας για GBS ήταν συχνότερα θετικό σε γυναίκες με <7 επισκέψεις σε γυναικολόγο στην παρούσα κύηση (10,3%) σε σχέση με γυναίκες με ≥ 7 επισκέψεις σε γυναικολόγο (6,9%).
- Το αποτέλεσμα της καλλιέργειας για GBS ήταν συχνότερα θετικό σε γυναίκες με προηγούμενο νεογνό SGA (23,5%) σε σχέση με γυναίκες χωρίς προηγούμενο νεογνό SGA (8,6%).
- Το αποτέλεσμα της καλλιέργειας για GBS ήταν συχνότερα θετικό σε μη καπνίστριες (8,3%) σε σχέση με καπνίστριες (4,5%).

Οι διμεταβλητές σχέσεις ανάμεσα στον λόγο επίσκεψης, τον αριθμό των προηγούμενων επισκέψεων σε γυναικολόγο, την εθνικότητα και τη λήψη κολπικού/ορδικού επιχρίσματος για GBS από τον γυναικολόγο στην παρούσα κύηση παρουσιάζονται στον πίνακα 5.

Εναισθησία στα αντιβιοτικά

Από τον έλεγχο εναισθησίας, κατά EUCAST, των στελεχών GBS που απομονώθηκαν προέκυψε:

Εναισθησία στην πενικιλίνη: 100%

Εναισθησία στην ερυθρομυκίνη: 77%

Εναισθησία στην κλινδαμυκίνη: 79,5%

Μοριακή τυποποίηση των στελεχών- ST κλώνοι

Με τη μέθοδο MLST τυποποιήθηκαν μοριακά 17 από τα απομονωθέντα στελέχη GBS, σε ST κλώνους. Ο συχνότερος κλώνος που ανιχνεύτηκε ήταν ο ST1 (5 από τα 17 στελέχη) και ακολούθησαν οι ST8, ST19 και ST23 σε 3 από τα 17 στελέχη έκαστος. Επίσης, ανιχνεύτηκαν οι τύποι ST17, ST106 και ST202 σε ένα στέλεχος GBS έκαστος.

ΚΩΔΙΚΟΣ	ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ MALDI-TOF	<i>adhP</i>	<i>pheS</i>	<i>atr</i>	<i>glnA</i>	<i>sdhA</i>	<i>glcK1</i>	<i>tkt1</i>	ST
11	<i>S. agalactiae</i>	1	1	2	1	1	2	2	1
31	<i>S. agalactiae</i>	1	1	3	2	2	2	2	19
84	<i>S. agalactiae</i>	4	1	4	1	3	3	2	8
87	<i>S. agalactiae</i>	2	1	1	2	1	1	1	17
90	<i>S. agalactiae</i>	5	4	6	3	2	1	3	23
114	<i>S. agalactiae</i>	5	4	6	3	2	1	3	23
135	<i>S. agalactiae</i>	1	1	3	2	2	2	2	19
148	<i>S. agalactiae</i>	4	1	4	1	3	3	2	8
163	<i>S. agalactiae</i>	4	1	4	1	3	3	2	8
170	<i>S. agalactiae</i>	1	1	3	2	2	2	2	19
177	<i>S. agalactiae</i>	5	4	6	3	2	1	3	23
195	<i>S. agalactiae</i>	1	4	6	3	2	1	3	220
199	<i>S. agalactiae</i>	1	1	3	4	2	5	2	106
218	<i>S. agalactiae</i>	1	1	2	1	1	2	2	1
220	<i>S. agalactiae</i>	1	1	2	1	1	2	2	1
249	<i>S. agalactiae</i>	1	1	2	1	1	2	2	1
255	<i>S. agalactiae</i>	1	1	2	1	1	2	2	1

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο β- αιμολυτικός στρεπτόκοκκος ομάδας Β αποτελεί συχνά μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας στο ουρογεννητικό ή/και πεπτικό σύστημα, μπορεί όμως σε ειδικές πληθυσμιακές ομάδες να μετατραπεί σε κυρίαρχο λοιμώδη παράγοντα και σημαντικό αίτιο νοσηρότητας και θνησιμότητας. Στις ομάδες αυξημένου κινδύνου ανήκουν τα νεογνά και τα μικρά βρέφη, οι έγκυες, οι ηλικιωμένοι και τα ανοσοκατεσταλμένα άτομα.

Ο GBS αποτελεί ένα από τα συχνότερα αίτια διεισδυτικής λοίμωξης στη νεογνική και πρώιμη βρεφική ηλικία. Το παθογόνο μεταφέρεται από τη μητέρα, είτε κατά τη διέλευση του εμβρύου από τον γεννητικό σωλήνα κατά τον φυσιολογικό τοκετό, είτε μέσω χοριοαμνιονίτιδας αλλά και αργότερα μέσω οριζόντιας μετάδοσης. Για το λόγο αυτό είναι σημαντική η μελέτη της επίπτωσης της μικροβιοφορίας με GBS στις εγκύους.

Στην παρούσα μελέτη, η επίπτωση του αποικισμού με GBS σε δείγμα 490 εγκύων με ηλικία κύησης ≥ 35 εβδομάδων υπολογίστηκε στο 8%. Το ποσοστό αυτό βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα σε σύγκριση με την καταγεγραμμένη επίπτωση σε παγκόσμια κλίμακα, παρά το γεγονός ότι ακολουθήθηκαν πιστά οι συνιστώμενες στη βιβλιογραφία διαδικασίες λήψης και καλλιέργειας των δειγμάτων. Σε συστηματική ανασκόπηση του 2017⁸, όπου μελετήθηκε η επίπτωση μικροβιοφορίας του παθογόνου σε εγκύους σε οποιαδήποτε ηλικία κύησης, με συλλογή δεδομένων από 85 χώρες, καταγράφεται ποσοστό

αποικισμού παγκοσμίως 18%, με μεγάλη ωστόσο περιοχική διακύμανση (11%-35%). Σε μελέτες στις οποίες συμπεριελήφθησαν έγκυες με ηλικία κύησης ≥ 35 εβδομάδων το παραπάνω ποσοστό υπολογίστηκε στο 15%. Τα μικρότερα ποσοστά αφορούσαν την ανατολική Ασία (11%) και τη νότια Ασία (12,5%). Στη βόρεια Αμερική ο αποικισμός υπολογίστηκε σε 23%, στη βόρεια Ευρώπη 22,3%, ενώ στη νότια Ευρώπη 17,6%. Σε μελέτη που έγινε στη δυτική Αυστραλία (2015-2017), με συλλογή δειγμάτων σε δύο χρόνους, αρχικά σε ηλικία κύησης ≤ 22 εβδομάδων και έπειτα σε ηλικία κύησης ≥ 33 εβδομάδων, υπολογίστηκε ότι 24% των εγκύων είναι αποικισμένες ενώ στο 10,6% ο αποικισμός ήταν παροδικός³⁷.

Στην Ελλάδα, παλαιότερη μελέτη με συλλογή κολπικού και ορδικού δείγματος σε εγκύους που διεξήχθη το 2003, υπολόγισε επίπτωση του GBS στο 6,6%³⁸.

Εκτός της συχνότητας αποικισμού, μελετήθηκαν παράγοντες που μπορεί να σχετίζονται με αυξημένη πιθανότητα GBS μικροβιοφορίας. Έπειτα από τη διμεταβλητή ανάλυση δεν προέκυψε στατιστική σχέση στο επίπεδο του 0,05% ($p < 0,05$), πιθανότατα λόγω του μεγέθους του δείγματος. Επισημαίνονται όμως οι παρακάτω σχέσεις που βρέθηκαν. Η επίπτωση της φορέας του GBS ήταν μεγαλύτερη στον πληθυσμό Ρομά και σε πρόσφυγες, 14,3% και 10,9% αντίστοιχα, σε σύγκριση με τις Ελληνίδες (7,3%). Μεγάλη μονοκεντρική μελέτη στις ΗΠΑ ανέδειξε μεγαλύτερα τα ποσοστά αποικισμού σε Αφροαμερικανές σε σύγκριση με γυναίκες Καυκάσιας φυλής και σε γυναίκες μη ισπανόφωνες συγκριτικά με την ισπανόφωνη φυλή³⁹. Ως εκ τούτου, η φυλή και η εθνικότητα φαίνεται να παίζουν ρόλο στην πιθανότητα αποικισμού με τον GBS. Υψηλότερο καταγράφεται στην παρούσα μελέτη το ποσοστό αποικισμού σε γυναίκες με πρωτοβάθμια εκπαίδευση σε σύγκριση με γυναίκες ανώτερης/ ανώτατης εκπαίδευσης, που υπολογίστηκε στο 13,2% και 6,7% αντίστοιχα. Επίσης, έγκυες με πλημμελή γυναικολογική παρακολούθηση κατά την εγκυμοσύνη (< 7 επισκέψεις) εμφάνισαν υψηλότερο ποσοστό φορέας σε σχέση με εγκύους με ≥ 7 επισκέψεις (10,3% έναντι 6,9%). Τα παραπάνω στοιχεία που αντικατοπτρίζουν το κοινωνικοοικονομικό επίπεδο, καταδεικνύουν το ρόλο που πιθανόν αυτό παίζει στον αποικισμό της εγκύου με GBS.

Το αποτέλεσμα της καλλιέργειας για GBS ήταν συχνότερα θετικό σε μη καπνίστριες (8,3%) σε σχέση με καπνίστριες (4,5%) κατά τη διάρκεια της κύησης, εύρημα που έρχεται σε αντίθεση με άλλες μελέτες, όπου θετική καλλιέργεια ανευρίσκονταν συχνότερα σε γυναίκες που κάπνιζαν κατά την κύηση³⁹⁻⁴¹.

Αξίζει να επισημανθεί ότι στις γυναίκες που είχαν συστηματική παρακολούθηση κατά τη διάρκεια της κύησης με ≥ 7 επισκέψεις στον γυναικολόγο, είχε γίνει εξέταση με συνδυασμό κολπικού και ορδικού επιχρίσματος σε μικρό μόνο ποσοστό αυτών (1,5%). Στην πλειονότητα των

γυναικών αυτών είχε εξεταστεί μόνο κολπικό επίχρισμα. Το εύρημα αυτό καταδεικνύει την ελλιπή συμμόρφωση προς τις κατευθυντήριες οδηγίες για τον προσυμπτωματικό έλεγχο των εγκύων και την πρόληψη της λοίμωξης νεογνού και μητέρας από τον GBS.

Ο έλεγχος ευαισθησίας του παθογόνου στα αντιβιοτικά, είναι βασική διαδικασία, ιδίως σε περιπτώσεις εγκύων με ιστορικό αλλεργίας στην πενικιλίνη. Η κλινδαμυκίνη είναι η πρώτη εναλλακτική επιλογή σε γυναίκες αυξημένου κινδύνου για αλλεργία στην πενικιλίνη, ενώ σε περίπτωση αντοχής στην κλινδαμυκίνη, χορηγείται βανκομυκίνη, για την οποία δεν υπάρχουν αναφορές ύπαρξης ανθεκτικών στελεχών. Από τον έλεγχο ευαισθησίας κατά EUCAST που έγινε στα απομονωθέντα στελέχη GBS στην παρούσα μελέτη προέκυψε η απουσία αντοχής στην πενικιλίνη, ενώ τα ποσοστά αντοχής στην ερυθρομυκίνη και κλινδαμυκίνη ήταν 23% και 20,5 % αντίστοιχα. Σε αντίστοιχες μελέτες στις οποίες πραγματοποιήθηκε έλεγχος ευαισθησίας του παθογόνου, αναφέρεται αντοχή στην ερυθρομυκίνη και κλινδαμυκίνη στις ΗΠΑ⁴² (2006-2015) 44,8% και 20,8%, στη Δανία⁴³ (2005-2018) 19% και 15% και στη νότια Κίνα⁴⁴ (2009-2014) 64,9% και 52,4% αντίστοιχα. Όλα τα στελέχη στις παραπάνω μελέτες ήταν ευαίσθητα στην πενικιλίνη. Παλαιότερη μελέτη στις ΗΠΑ⁴⁵ (1996-2003) ανέδειξε 0% αντοχή στην πενικιλίνη, 25,6% αντοχή στην ερυθρομυκίνη και 12,7% αντοχή στην κλινδαμυκίνη. Στη χώρα μας σε μελέτη που έγινε το 2003, επίσης δεν ανιχνεύτηκε στέλεχος GBS με αντοχή στην πενικιλίνη, ενώ ήταν σημαντικά χαμηλότερα τα ποσοστά αντοχής σε ερυθρομυκίνη (7,5%) και κλινδαμυκίνη (7,5%)³⁶. Παρατηρούμε πως διαχρονικά ο GBS παραμένει ευαίσθητος στο πρώτης επιλογής αντιβιοτικό για την πρόληψη και θεραπεία του, την πενικιλίνη, όμως υπάρχει αυξητική τάση στην αντοχή σε ερυθρομυκίνη και κλινδαμυκίνη. Τα ανωτέρω καθιστούν σημαντική τη διενέργεια αντιβιογράμματος σε περιπτώσεις απομόνωσης του παθογόνου, ιδίως σε εγκύους με γνωστό ιστορικό αλλεργίας στην πενικιλίνη, καθώς υπάρχει σημαντική πιθανότητα αντοχής στην κλινδαμυκίνη. Το γεγονός αυτό αποτελεί ένα από τα μειονεκτήματα της αναδυόμενης τα τελευταία χρόνια μεθόδου ανίχνευσης/ ενίσχυσης νουκλεικού οξέος (NAAT), καθώς ανιχνεύει μεν το παθογόνο, χωρίς όμως να υπάρχει η δυνατότητα διενέργειας αντιβιογράμματος.

Ο GBS διακρίνεται σε δέκα οροτύπους (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX) βάσει των πολυσακχαριδικών αντιγόνων που βρίσκονται στην επιφάνειά του. Οι ορότυποι I έως V απομονώνονται συχνότερα στον άνθρωπο. Είναι υπεύθυνοι για το 93-99% των λοιμώξεων από το συγκεκριμένο παθογόνο στις ευπαθείς ομάδες⁴⁶ και το 98% των στελεχών που αποικίζουν τις εγκύους⁸. Συγκεκριμένα, ο ορότυπος III ανευρίσκεται στο 25% των αποικισμένων εγκύων παγκοσμίως και ακολουθεί ο Ia με 19%³⁴. Πρέπει να επισημανθεί πως στα ποσοστά αυτά υπάρχει περιοχική διακύμανση, παρόλα αυτά οι ορότυποι III, Ia και V είναι οι

συχνότεροι σε Ευρώπη, Βόρεια Αμερική, Αφρική, Αυστραλία και ανατολική Ασία. Στην πρώιμη νεογνική νόσο απομονώνονται συχνότερα οι ορότυποι III και Ia, στο 27,3% των περιστατικών έκαστος, ενώ και στην όψιμη νεογνική νόσο κυριαρχεί ο ορότυπος III, που ανευρίσκεται σε ποσοστό 56,2%¹⁰.

Εκτός των οροτύπων, τα τελευταία χρόνια γίνεται και μοριακή διάκριση των στελεχών GBS σε τύπους αλληλουχίας (STs), με βάση την αλληλουχία πολλαπλών γενετικών τόπων (MLST). Οι μοριακές τεχνικές έχουν διευκολύνει στον ακριβέστερο χαρακτηρισμό του παθογόνου, και έχει διαπιστωθεί πως διαφορετικοί STs συνδέονται με διαφορετική λοιμογόνο ισχύ. Επίσης διαπιστώθηκε η παρουσία διαφορετικών οροτύπων στον ίδιο ST⁴⁶. Αυτό είναι σημαντικό δεδομένο για τα εμβόλια που βασίζονται σε καψιδικούς πολυσακχαρίτες, καθώς ορισμένοι τύποι αλληλουχιών έχουν συσχετιστεί περισσότερο με διεισδυτική νόσο GBS, όπως ο ST17 για τον οποίο έχει αποδειχθεί ισχυρή σχέση με τη σοβαρή νεογνική και βρεφική νόσο. Πέντε βασικοί κλώνοι σχετίζονται με τον αποικισμό και τη διεισδυτική νόσο από GBS στον άνθρωπο, οι ST1, ST10, ST17, ST19, ST23. Στον αποικισμό των εγκύων απαντώνται συχνότερα οι ST19 (22%), ST23(19%), ST1 (17%) και ST17 (15%). Ο συχνότερος ορότυπος σε αυτούς τους τύπους αλληλουχίας είναι ο III. Συγκεκριμένα, ανευρίσκεται στο 98% των ST17 και 70% των ST19, ενώ ο Ia στο 65% των ST23 και ο V στο 52% των ST1. Σε περιστατικά νεογνικής και βρεφικής νόσου κυριαρχεί ο ST17 (42%)³⁴. Στη μελέτη μας, έγινε μοριακή τυποποίηση σε 17 από τα απομονωθέντα στελέχη GBS. Πέντε στελέχη ανήκαν στον ST1, τρία στελέχη στον ST23, τρία στον ST19, τρία στον ST8 και ένα στέλεχος στον ST17. Διαπιστώθηκε επομένως ότι και στην παρούσα μελέτη οι STs που ταυτοποιήθηκαν είναι αντίστοιχοι με αυτούς που αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία.

Οι κατευθυντήριες οδηγίες που έχουν δεσπιστεί σχετικά τον προσυμπτωματικό έλεγχο των εγκύων για φορεία του GBS είχαν σαν αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση στην επίπτωση της πρώιμης διεισδυτικής νόσου στα νεογνά. Η ανάπτυξη ενός αποτελεσματικού εμβολίου έναντι του μικροοργανισμού αυτού, θα οδηγήσει στην ανάπτυξη προστασίας από τη σοβαρή νόσο σε όλες τις ομάδες αυξημένου κινδύνου και θα μειώσει τη χρήση αντιβιοτικών που χορηγούνται στα πλαίσια της χημειοπροφύλαξης. Η ανάπτυξη εμβολίων κατά του GBS θα πρέπει ιδανικά να βασίζεται σε δεδομένα από όλο τον κόσμο. Θα πρέπει να ληφθούν υπόψιν όλοι οι ευάλωτοι πληθυσμοί για διεισδυτική λοίμωξη από GBS και δεδομένα όχι μόνο για την κατανομή των οροτύπων αλλά και για τους τύπους αλληλουχίας (ST) και τις πρωτεΐνες στόχους επιφανείας.

Στους περιορισμούς της μελέτης αυτής συγκαταλέγεται το γεγονός πως όλα τα δείγματα προέρχονται από ένα μόνο νοσοκομείο και ενδεχομένως το δείγμα θα ήταν πιο αντιπροσωπευτικό εάν είχαν λάβει μέρος στη μελέτη περισσότερα

κέντρα. Επίσης, λόγω του χαμηλού ποσοστού αποικισμού των εγκύων στην περιοχή της μελέτης, το μέγεθος δείγματος ήταν μικρό και οι συσχετίσεις για πιθανούς παράγοντες κινδύνου δεν αποδείχθηκαν στατιστικά σημαντικές.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, η επίπτωση του αποικισμού των επιτόκων με GBS στη χώρα μας φαίνεται από την παρούσα και προηγούμενες μελέτες πως κυμαίνεται σε χαμηλά επίπεδα σε σύγκριση με τη καταγραφόμενη παγκόσμια επίπτωση. Τα στελέχη GBS παραμένουν ευαίσθητα στο πρώτης εκλογής αντιβιοτικό για χημειοπροφύλαξη, την πενικιλίνη, ενώ παρατηρείται αυξητική τάση της αντοχής του παθογόνου σε ερυθρομυκίνη και κλινδαμυκίνη. Το πεδίο μελέτης και έρευνας για τον β αιμολυτικό στρεπτόκοκκο ομάδας Β είναι ευρύ, ιδίως στον τομέα πρόληψης της νόσου στις ομάδες αυξημένου κινδύνου (εγκύους, νεογνά, ανοσοκατεσταλμένους ενήλικες, υπερήλικες). Η ανάπτυξη ενός αποτελεσματικού εμβολίου έναντι του GBS αποτελεί βασικό στόχο του παγκόσμιου οργανισμού υγείας για τα επόμενα έτη, καθώς αναμένεται να συμβάλει καθοριστικά στην περαιτέρω μείωση της νεογνικής και βρεφικής θνησιμότητας.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας 1. Δημογραφικά χαρακτηριστικά των εγκύων

Χαρακτηριστικά	N	%
Οικογενειακή κατάσταση		
Εγγαμες/σε συμβίωση	426	86,9
Άγαμες	64	13,1
Εθνικότητα		
Ελληνίδες	302	64,7
Μετανάστριες	63	13,5
ROMA	56	12,0
Πρόσφυγες	46	9,9
Ηλικία ^α	30,8	6,7
Εκπαιδευτικό επίπεδο		
Πρωτοβάθμια εκπαίδευση	68	14
Δευτεροβάθμια εκπαίδευση	255	52,4
ΤΕΙ	56	11,5
ΑΕΙ	108	22,2
Επαγγελματική κατάσταση		
Άνεργες	220	45
Εργαζόμενες	269	55
Ασφαλιστική κάλυψη		
Όχι	191	39
Ναι	299	61

^α (έτη) μέση τιμή, τυπική απόκλιση

Πίνακας 2. Χαρακτηριστικά της παρούσας κύησης των εγκύων που συμμετείχαν στη μελέτη.

Χαρακτηριστικά	N	%
Λόγος επίσκεψης		
Εναρξη τοκετού	178	36,3
Παρακολούθηση- Γυναικολογική εξέταση	312	63,7
Τόκος		
Πρώτος	216	44,1
Δεύτερος	178	36,3
Τρίτος	60	12,2
Τέταρτος	24	4,9
Τουλάχιστον πέμπτος	12	2,4
Ηλικία κύησης (εβδομάδες) ^a	38,3	1,4
Αριθμός προηγούμενων επισκέψεων σε γυναικολόγο στην παρούσα κύηση ^a	7,2	2,8
Αριθμός προηγούμενων επισκέψεων σε γυναικολόγο στην παρούσα κύηση		
<7	155	31,8
≥7	332	68,2

^a μέση τιμή, τυπική απόκλιση

Πίνακας 3. Γυναικολογικό και μαιευτικό ιστορικό των εγκύων που συμμετείχαν στη μελέτη

Χαρακτηριστικά	N	%
Αποτέλεσμα καλλιέργειας για GBS στην παρούσα κύηση		
Αρνητικό	451	92
Θετικό	39	8
Λήψη κολπικού/ορθικού επιχρίσματος για GBS στην παρούσα κύηση		
Όχι	159	32,6
Μόνο κολπικό	313	64,1
Κολπικό και ορθικό	16	3,3
Καλλιέργεια ούρων κατά την κύηση		
Όχι	294	60
Ναι	196	40
Συμπτωματολογία κολπίτιδας στην παρούσα κύηση		
Όχι	465	95,3
Ναι	23	4,7
Παθολογία-επιπλοκή παρούσας κύησης		
Όχι	346	70,8
Ναι	143	29,2
Προηγούμενες αποβολές		
Όχι	399	81,6
Ναι	90	18,4
Αριθμός προηγούμενων αποβολών		
Μια	66	73,3
Δυο	19	21,1
Τουλάχιστον τρεις	5	5,5

Προηγούμενο νεογνό SGA		
Όχι	266	94
Ναι	17	6
Αποικισμός με group B στρεπτόκοκκο (θετική καλλιέργεια κολπικού ή ορδικού ή βακτηριουρία) σε προηγούμενη κύηση		
Όχι	490	100
Ναι	0	0
Προηγούμενο νεογνό με λοίμωξη από group B στρεπτόκοκκο		
Όχι	490	100
Ναι	0	0
Χρόνιο νόσημα εγκύου		
Όχι	455	93,4
Ναι	32	6,6
Καρδιαγγειακό νόσημα		
Όχι	478	98
Ναι	10	2
Μεταβολικό νόσημα		
Όχι	475	97,3
Ναι	13	2,7
Αναπνευστική νόσος		
Όχι	483	99
Ναι	5	1
Κακοήθεια		
Όχι	487	99,8
Ναι	1	0,2
Αυτοάνοσο νόσημα		
Όχι	484	99,2
Ναι	4	0,8

Κάπνισμα κατά τη διάρκεια της κύησης		
Όχι	444	91
Ναι	44	9
Λήψη αντιβιοτικής αγωγής τους τελευταίους τρεις μήνες		
Όχι	430	88,1
Ναι	58	11,9

Πίνακας 4. Συσχέτιση δημογραφικών χαρακτηριστικών και γυναικολογικού-μαιευτικού ιστορικού των εγκύων με το αποτέλεσμα της καλλιέργειας για GBS

Ανεξάρτητες μεταβλητές	Αποτέλεσμα της καλλιέργειας για GBS				Τιμή p
	Αρνητικό		Θετικό		
	N	%	N	%	
Οικογενειακή κατάσταση					0,9 ^a
Εγγαμες/σε συμβίωση	392	92	34	8	
Άγαμες	59	92,2	5	7,8	
Εθνικότητα					0,2 ^a
Ελληνίδες	280	92,7	22	7,3	
Μετανάστριες	60	95,2	3	4,8	
ROMA	48	85,7	8	14,3	
Πρόσφυγες	41	89,1	5	10,9	
Ηλικία					0,5 ^a
<32 έτη	257	92,8	20	7,2	

≥32 έτη	194	91,1	19	8,9	
Εκπαιδευτικό επίπεδο					0,2 ⁶
Πρωτοβάθμια εκπαίδευση	59	86,8	9	13,2	
Δευτεροβάθμια εκπαίδευση	236	92,5	19	7,5	
ΤΕΙ/ΑΕΙ	153	93,3	11	6,7	
Επαγγελματική κατάσταση					0,6 ^α
Άνεργες	201	91,4	19	8,6	
Εργαζόμενες	249	92,6	20	7,4	
Λόγος επίσκεψης					0,5 ^α
Εναρξη τοκετού	162	91	16	9	
Γυναικολογική εξέταση	289	92,6	23	7,4	
Τόκος					0,3 ^α
Πρώτος	202	93,5	14	6,5	
Τουλάχιστον δεύτερος	249	90,9	25	9,1	
Αριθμός προηγούμενων επισκέψεων σε γυναικολόγο στην παρούσα κύηση					0,2 ^α
<7	139	89,7	16	10,3	
≥7	309	93,1	23	6,9	
Λήψη κολπικού/ορδικού επιχρίσματος για GBS στην παρούσα κύηση					0,5 ^α
Όχι	143	89,9	16	10,1	
Μόνο κολπικό	291	93	22	7	
Κολπικό και ορδικό	15	93,8	1	6,3	
Συμπτωματολογία κολπίτιδας στην παρούσα κύηση					0,9 ^α
Όχι	428	92	37	8	
Ναι	21	91,3	2	8,7	
Παθολογία-επιπλοκή παρούσας κύησης					0,9 ^α

Όχι	318	91,9	28	8,1	
Ναι	132	92,3	11	7,7	
Προηγούμενες αποβολές					0,4 ^α
Όχι	366	91,5	34	8,5	
Ναι	85	94,4	5	5,6	
Προηγούμενο νεογνό SGA					0,07 ^γ
Όχι	243	91,4	23	8,6	
Ναι	13	76,5	4	23,5	
Χρόνιο νόσημα εγκύου					0,5 ^γ
Όχι	417	91,6	38	8,4	
Ναι	31	96,9	1	3,1	
Κάπνισμα κατά τη διάρκεια της κύησης					0,6 ^γ
Όχι	407	91,7	37	8,3	
Ναι	42	95,5	2	4,5	
Λήψη αντιβιοτικής αγωγής τους τελευταίους τρεις μήνες					1 ^γ
Όχι	395	91,9	35	8,1	
Ναι	54	93,1	4	6,9	

^α έλεγχος χ^2

^β έλεγχος χ^2 για τάση

^γ ακριβής έλεγχος Fisher

Πίνακας 5. Συσχέτιση του ιστορικού λήψης καλλιέργειας για GBS από τον γυναικολόγο, με δημογραφικά χαρακτηριστικά και το ιστορικό παρακολούθησης των εγκύων

Ανεξάρτητες μεταβλητές	Λήψη κολπικού/ορθικού επιχρίσματος για GBS στην παρούσα κύηση						Τιμή p
	Όχι		Μόνο κολπικό		Κολπικό και ορθικό		
	N	%	N	%	N	%	
Λόγος επίσκεψης							0,9 ^α
Εναρξη τοκετού	56	31,6	116	65,5	5	2,8	
Γυναικολογική εξέταση	103	33,1	197	63,3	11	3,5	
Εθνικότητα							<0,001 ^α
Ελληνίδες	50	16,6	239	79,4	12	4	
Μετανάστριες	17	27	45	71,4	1	1,6	
ROMA	45	80,4	10	17,9	1	1,8	
Πρόσφυγες	33	73,3	10	22,2	2	4,4	
Αριθμός προηγούμενων επισκέψεων σε γυναικολόγο στην παρούσα κύηση							<0,001 ^α
<7	105	67,7	39	25,2	11	7,1	
≥7	52	15,7	274	82,8	5	1,5	

^α έλεγχος χ^2

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Vanessa N. Raabe, Andi L. Shane Group B Streptococcus (Streptococcus agalactiae) Microbiol Spectr. 2019 doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0007-2018
2. Lancefield RC. 1933. A Serological Differentiation of Human and Other Groups of Hemolytic Streptococci. J Exp Med 57:571–595 10.1084/jem.57.4.571
3. Fatal Infections by Haemolytic Streptococcus Group B. Lancet 1:199–201 10.1016/S0140-6736(00)93202-1
4. Braunstein H, Tucker EB, Gibson BC. 1969. Identification and significance of Streptococcus agalactiae (Lancefield group B). Am J Clin Pathol 51:207–213 10.1093/ajcp/51.2.207.
5. Meyn et al. Rectal colonization by group B Streptococcus as a predictor of vaginal colonization. Am. J. Obstet. Gynecol. 2009
6. American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) Committee Opinion Number 797 February 2020
7. Brzychczy-Włoch M. et al New Microbiol 2014. Dynamics of colonization with group B streptococci in relation to normal flora in women during subsequent trimesters of pregnancy
8. Neal J Russell et al. Maternal Colonization With Group B Streptococcus and Serotype Distribution Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses. Clin Infect Dis. 2017
9. Madrid L, Seale AC, Kohli-Lynch M, et al; Infant GBS Disease Investigator Group. Infant group B streptococcal disease incidence and serotypes worldwide: systematic review and meta-analyses. Clin Infect Dis. 2017;65(suppl_2):S160–S172
10. Nanduri SA et al. Epidemiology of invasive early-onset and late-onset group B streptococcal disease in the United States, 2006 to 2015: multistate laboratory and population-based surveillance. JAMA Pediatr. 2019;173(3):224–233
11. Deutscher M, et al. Incidence and severity of invasive Streptococcus pneumoniae, group A Streptococcus, and group B Streptococcus infections among pregnant and postpartum women. Clin Infect Dis 53:114–123 10.1093
12. Hall J et al. Maternal Disease With Group B Streptococcus and Serotype Distribution Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses. 2017 Clin Infect Dis 65(suppl_2):S112–S124 10.1093/cid/cix660

13. Seale AC et al . Estimates of the burden of group B streptococcal disease worldwide for pregnant women, stillbirths, and children . *Clin Infect Dis* 2017 ; 65 : S200 – 19
14. Anouk E. Muller et al Morbidity related to maternal group B streptococcal infections *Acta Obstet Gynecol Scand* 2006;85(9):1027-37. doi: 10.1080/00016340600780508.
15. Bianchi-Jassir F et al Preterm Birth Associated With Group B Streptococcus Maternal Colonization Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses.2017 *Clin Infect Dis* 65(suppl_2):S133–S142 10.1093/cid/cix661.
16. Management of Infants at Risk for Group B Streptococcal Disease Karen M. Puopolo, et al; *Pediatrics* (2019) 144 (2): e20191881. <https://doi.org/10.1542/peds.2019-1881>
17. Group B streptococcal infections. In: Kimberlin DW, Brady MT, Jackson MA, Long SS, eds. *Red Book: 2018 Report of the Committee on Infectious Diseases*. 31st ed. Itasca, IL: American Academy of Pediatrics; 2018:762–768
18. Cueto M, et. al Timing of intrapartum ampicillin and prevention of vertical transmission of group B streptococcus. *Obstet Gynecol*. 1998;91(1):112–114
19. Benitz WE, Gould JB, Druzin ML. Risk factors for early-onset group B streptococcal sepsis: estimation of odds ratios by critical literature review. *Pediatrics*. 1999;103(6).
20. A Schuchat et al. Population-based risk factors for neonatal group B streptococcal disease: results of a cohort study in metropolitan Atlanta. *J Infect Dis*. 1990;162(3):672–677
21. Puopolo KM, Draper D, WiS, et al. Estimating the probability of neonatal early-onset infection on the basis of maternal risk factors. *Pediatrics*. 2011;128(5).
22. Boyer KM, Gotoff SP. Prevention of early-onset neonatal group B streptococcal disease with selective intrapartum chemoprophylaxis. *N Engl J Med* 1986;314:1665—9
23. Tuppurainen N, Hallman M. Prevention of neonatal group B streptococcal disease: intrapartum detection and chemoprophylaxis of heavily colonized parturients. *Obstet Gynecol* 1989;73:583--7.
24. Yancey MK ,et al. The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting genital group B streptococcal colonization at delivery . *Obstet Gynecol* 1996 ; 88 : 811 – 5.
25. Virranniemi M. et al . The effect of screening-to-labor interval on the sensitivity of late pregnancy culture in the prediction of group B

- streptococcus colonization at labor: a prospective multicenter cohort study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2018 . DOI: 10.1111/aogs.13522
26. Church DL ,et al. Evaluation of Strep B carrot broth versus Lim broth for detection of group B Streptococcus colonization status of near-term pregnant women . *J Clin Microbiol* 2008 ; 46 : 2780 – 2 .
 27. Alfa MJ , et al . Real-time PCR assay provides reliable assessment of intrapartum carriage of group B Streptococcus . *J Clin Microbiol* 2010 ; 48 : 3095 – 9
 28. Couturier BA , et al. Antepartum screening for group B Streptococcus by three FDA-cleared molecular tests and effect of shortened enrichment culture on molecular detection rates . *J Clin Microbiol* 2014 ; 52 : 3429 – 32 .
 29. El Helali N, et al. Diagnostic accuracy of a rapid real-time polymerase chain reaction assay for universal intrapartum group B streptococcus screening . *Clin Infect Dis* 2009 ; 49 : 417 – 23 .
 30. El Helali N, et al . Point-of-care intrapartum group B streptococcus molecular screening: effectiveness and costs . *Obstet Gynecol* 2019 ; 133 : 276 – 81 .
 31. Schrag SJ, Verani JR. Intrapartum antibiotic prophylaxis for the prevention of perinatal Group B streptococcal disease: experience in the United States and implications for a potential Group B streptococcal vaccine. *Vaccine*. 2013;31(Suppl 4):D20–D26. doi: 10.1016/j.
 32. Ainonen S et al. Antibiotics at birth and later antibiotic courses: effects on gut microbiota. *Pediatr Res*. 2021;doi: 10.1038/s41390-021-01494-7.
 33. Baker CJ, Kasper DL. Correlation of maternal antibody deficiency with susceptibility to neonatal Group B streptococcal infection. *N Engl J Med*. 1976;294(14):753–756. doi: 10.1056/NEJM197604012941404.
 34. Bianchi-Jassir F, et al. Systematic review of Group B streptococcal capsular types, sequence types and surface proteins as potential vaccine candidates. *Vaccine*. 2020;38(43):6682–6694. doi: 10.1016/j.
 35. Guidelines for the Detection and Identification of Group B Streptococcus 2020 Laura Filkins et al, American Society of Microbiology (ASM)
 36. Altaie SS, Dryja D. 1994. Detection of Group B Streptococcus. Comparison of Solid and Liquid Culture Media With and Without Selective Antibiotics. *Diagn Microbiol Infect Dis* 18:141–144.
 37. Group B streptococcus prevalence, serotype distribution and colonization dynamics in Western Australian pregnant women. Lucy

- L Furfaro et al J Med Microbiol. 2019 May;68(5):728-740. doi: 10.1099/jmm.0.000980
38. M Tsolia et al. Group B streptococcus colonization of Greek pregnant women and neonates: prevalence, risk factors and serotypes. 2003 Aug;9(8):832-8. doi: 10.1046/j.1469-0691.2003.00662.x.
 39. Group B Streptococcus (GBS) Colonization and Disease among Pregnant Women: A Historical Cohort Study James M. Edwards et al. Infect Dis Obstet Gynecol 2019 doi: 10.1155/2019/5430493
 40. Group B streptococcal colonization: Prevalence and impact of smoking in women delivering term or near term neonates in a large tertiary care hospital in the southern United States Philip Kum-Nji et al. PLoS One 2020 doi: 10.1371/journal.pone.0239294
 41. Risk factors for maternal colonization with group B beta-hemolytic streptococci R R Terry et al, Case Reports J Am Osteopath Assoc 1999 doi: 10.7556/jaoa.1999.99.11.571.
 42. Epidemiology of Invasive Early-Onset and Late-Onset Group B Streptococcal Disease in the United States, 2006 to 2015. Multistate Laboratory and Population-Based Surveillance Srinivas Acharya Nanduri et al, . JAMA Pediatr. 2019
 43. The Epidemiology of Invasive Group B Streptococcus in Denmark From 2005 to 2018 Hans-Christian Slotved et al, Front. Public Health, 10 March 2020 | <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00040>
 44. Colonization prevalence and antibiotic susceptibility of Group B Streptococcus in pregnant women over a 6-year period in Dongguan, China Wenjing Ji ,Lihua Zhang, 2017
 45. Antibiotic resistance patterns in invasive group B streptococcal isolates Mei L Castor et al, Infect Dis Obstet Gynecol 2008;2008:727505. doi: 10.1155/2008/727505
 46. Group B Streptococcal Maternal Colonization and Neonatal Disease: Molecular Mechanisms and Preventative Approaches, Kathryn A. Patras and Victor Nizet, Front. Pediatr. 2018 | <https://doi.org/10.3389/fped.2018.00027>