

**Ocena skuteczności antybiotykoterapii okołoporodowej
u kobiet ciężarnych GBS (+).**

lek. med. Paweł Podhalański

rozprawa doktorska

promotor pracy: dr hab. n. med. Dariusz Samulak

Katedra Zdrowia Matki i Dziecka

Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Poznań 2012

SPIS TREŚCI

Wykaz stosowanych skrótów.....	4
1. Wstęp.....	6
1.1. Wprowadzenie.....	6
1.2. Paciorkowce – charakterystyka, systematyka.....	8
1.2.1. Paciorkowce - charakterystyka.....	8
1.2.2. Paciorkowce - systematyka.....	9
1.3. Paciorkowiec beta-hemolizujący grupy B (GBS).....	11
1.3.1. <i>Streptococcus agalactiae</i> - charakterystyka	11
1.3.2. <i>Streptococcus agalactiae</i> – pobieranie materiałów do badań mikrobiologicznych – zalecenia wg PTG.....	12
1.3.3. <i>Streptococcus agalactiae</i> – prowadzenie diagnostyki mikrobiologicznej.....	13
1.3.3.1. Wykonanie posiewu w kierunku GBS.....	13
1.3.3.2. Wstępna identyfikacja.....	13
1.3.3.3. Szczegółowa identyfikacja <i>S. agalactiae</i>	15
1.3.3.3.1. Metody fenotypowe.....	15
1.3.3.3.2. Metoda genotypowa.....	15
1.3.3.4. Badanie oporności na antybiotyki ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmu odporności na makrolidy i linkomycynę (MLS _B).....	18
1.4. <i>Streptococcus agalactiae</i> - okołoporodowa profilaktyka antybiotykowa.....	20
1.5. Postępowanie z noworodkiem w przypadku nosicielstwa GBS u matki.....	23

1.6. Powikłania u noworodków matek GBS dodatnich.....	25
1.7. <i>Streptococcus pyogenes</i> – uwagi dotyczące zakażeń poporodowych.....	27
1.7.1. Postępowanie okołoporodowe.....	27
1.7.2. Postępowanie po porodzie	28
1.7.3. Diagnostyka mikrobiologiczna	29
1.7.3.1. Metody fenotypowe.....	29
1.7.3.2. Metody genotypowe.....	29
1.7.4. Badanie oporności na antybiotyki ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmu oporności na makrolidy i linkomycynę (MLS _B)	30
2. Cel pracy.....	31
3. Materiał i metoda.....	32
4. Wyniki.....	34
5. Dyskusja.....	47
6. Wnioski.....	60
Streszczenie.....	61
Evaluation of the effectiveness of perinatal antibiotic therapy in pregnant women with GBS infection. – summary.....	66
Piśmiennictwo.....	70

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

A – adenina

AAP (*American Academy of Pediatrics*) – Amerykańska Akademia Pediatrii

ACOG (*American College of Obstetricians and Gynecologists*) – Amerykańskie Towarzystwo Położników i Ginekologów.

C – cytozyna

CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) – Centra Kontroli i Zapobiegania Chorobom

CPS (*capsular polysaccharides*) – otoczka polisacharydowa

CRP (*C-reactive protein*) – białko C-reaktywne

DNA (*deoksyrybonucleid acid*) – kwas deoksyrybonukleinowy

EOD (*early onset disease*) – choroba o wczesnym początku

EOS (*early onset sepsis*) – sepsa o wczesnym początku

G - guanina

GBS (*group B Streptococcus*) – *Streptococcus* grupy B

Hbd (*hebdomas*) – tydzień ciąży

IAP (*intrapartum antibiotic prophylaxis*) – okołoporodowa profilaktyka antybiotykowa

IL (*interleukin*) - interleukina

LBW (*low birth weight*) – niska masa urodzeniowa

LOD (*late onset disease*) – choroba o późnym początku

M – mol (jednostka miary)

MLS_B (*macrolide, lincosamide, streptogramin B type*) – typ oporny na makrolidy i linkomycynę)

n (*number*) - liczba

NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*) – Narodowy Komitet ds. Klinicznych Standardów Laboratoryjnych

PCR (*polymerase chain reaction*) – reakcja łańcuchowej polimerazy

PROM (*premature rupture of membranes*) – przedwczesne pęknięcie błon płodowych

PTG – Polskie Towarzystwo Ginekologiczne

pz – para zasad

T – tymina

U – uracyl

VLBW (*very low birth weight*) – bardzo niska masa urodzeniowa

WBC (*white blood cells*) – leukocyty

ZP – zapalenie płuc

ZUM – zakażenie układu moczowego

ZZO – zespół zaburzeń oddechowych

1. Wstęp

1.1. Wprowadzenie

Streptococcus agalactiae jest paciorkowcem beta-hemolizującym z grupy B (GBS – Group B *Streptococcus*), który może kolonizować dolny odcinek przewodu pokarmowego, odbytnicę, pochwę. Bakteria ta występuje u około 10 – 30% wszystkich kobiet i najczęściej nie daje żadnych objawów zakażenia. Grupą szczególnie narażoną na zwiększone namnażanie się GBS są kobiety ciężarne. Fakt ten ma istotne znaczenie ze względu na istniejące duże ryzyko kolonizacji bakterią noworodka (ok. 70%) i możliwość wystąpienia groźnych dla dziecka powikłań, najczęściej pod postacią chorób układu oddechowego, zapalenia płuc i posocznicy [1].

Przed wprowadzeniem rutynowych badań przesiewowych w kierunku kolonizacji paciorkowcami grupy B kobiet ciężarnych, czyli przed 1990 rokiem, w USA co roku odnotowywano 7600 przypadków zakażeń noworodków, z czego 310 kończyło się zgonem. Dzięki wprowadzeniu standardów dotyczących wykrywania GBS u kobiet w ciąży, poprawie jakości rutynowej diagnostyki mikrobiologicznej, a także stosowaniu profilaktyki w postaci antybiotykoterapii okołoporodowej udało się zmniejszyć umieralność noworodków z 15–25% w latach 80. do 4–6% w latach 90. [2, 3].

W Europie odsetek kobiet w ciąży skolonizowanych paciorkowcem grupy B wynosi: 6,6% w Grecji, 7% w Hiszpanii, 16% w Niemczech. Częstość zakażeń *Streptococcus agalactiae* wśród noworodków (na 1000 żywych urodzeń) wynosi 0,2–0,3 w Niemczech, 0,76 w Finlandii, 4,5 we Francji, 5,4 w Austrii, 0,4–1,42 w Wielkiej Brytanii, 0,54 w Norwegii, a w Hiszpanii 0,4–9 [4, 5, 6].

W Polsce stwierdza się coraz większą liczbę kobiet skolonizowanych GBS, a także odnotowuje się rosnącą liczbę noworodków z obecną kolonizacją tym paciorkowcem.

Na podstawie badań przeprowadzonych w województwie mazowieckim w latach 2001–2002 w grupie 1678 ciężarnych stwierdzono kolonizację paciorkowcem grupy B u 331 kobiet, co stanowiło 19,7%, natomiast spośród 203 noworodków, urodzonych przez pacjentki z potwierdzoną kolonizacją GBS, 70 dzieci miało dodatnie posiewy w kierunku *Streptococcus agalactiae*, co stanowiło aż 34,5%. U jednego dziecka wystąpiła wczesna sepsa noworodkowa [7].

Badania z terenu województwa małopolskiego na grupie 340 ciężarnych w latach 2004–2005 wykazały nosicielstwo GBS u 61 z nich, co stanowiło około 18%, natomiast wśród 362 noworodków tych matek kolonizację *Streptococcus agalactiae* stwierdzono u 31 dzieci, czyli u około 9,5%, z czego u 7 noworodków wystąpiły objawy stanu zapalnego, a 2 z nich zmarło ze względu na wystąpienie zakażenia uogólnionego [8].

Nieco odmienne dane uzyskano na podstawie wyników badań przeprowadzonych w województwie śląskim. W tym przypadku kolonizację paciorkowcami grupy B stwierdzono u 23 kobiet na 701 objętych badaniem, co stanowiło 3,3% [9].

Zastosowanie odpowiednich ujednoczonych procedur diagnostycznych (posiew z pochwy pomiędzy 35 – 37 tygodniem ciąży, odpowiednia hodowla i identyfikacja mikrobiologiczna) oraz antybiotykoterapii okołoporodowej może znacznie ograniczyć częstość zachorowań u dzieci i wystąpienia u nich groźnych dla życia powikłań.

1.2. Paciorkowce – charakterystyka, systematyka.

1.2.1. Paciorkowce – charakterystyka

Paciorkowce, streptokoki (łac. *Streptococcus* - nazwa pochodząca od greckiego "streptos" oznaczającego coś łatwo wyginającego się) - rodzaj kulistych bakterii Gram dodatnich [10], tlenowych lub względnie beztlenowych. Podziały tych drobnoustrojów zachodzą wzdłuż jednej osi, dlatego rosną one w łańcuchu lub parach.

Paciorkowce wywołują zapalenie gardła, a także zapalenia: opon mózgowo-rdzeniowych, płuc, wsierdza, różę i martwicze zapalenie powięzi. Istotne jest to, że wiele gatunków paciorkowców jest nieszkodliwych – stanowią one również część flory komensalnej jamy ustnej, skóry, jelit i górnych dróg oddechowych u człowieka [11].

1.2.2. Paciorkowce – systematyka

Tabela 1. Systematyka paciorkowców.

Systematyka	
Królestwo	bakterie
Typ	Firmicutes
Klasa	Bacilli
Rząd	Lactobacillales
Rodzina	Streptococcaceae
Rodzaj	<i>Streptococcus</i>
Nazwa systematyczna	
<i>Streptococcus</i>	

Poszczególne gatunki paciorkowców są klasyfikowane głównie na podstawie ich właściwości hemolitycznych [11].

Hemoliza alfa jest wywołana przez redukcję żelaza w hemoglobinie, dająca zielony kolor na agarze krwawym.

Hemoliza beta jest związana z całkowitym rozerwaniem erytrocytów, co daje wyróżniające się jasne obszary wokół kolonii bakteryjnych.

Serotypowanie Lancefield - oparte na specyficznych grupach cukrowych w ścianach komórkowych jest używane dla dokładniejszego rozróżnienia gatunków beta hemolizujących [12]. Noszą one oznaczenia od A do O. W medycynie beta hemolizujące

paciorkowce grupy Lancefield A i B mają największe znaczenie. Dodatkowo, niektóre paciorkowce alfa hemolizujące (szczególnie *Streptococcus pneumoniae* i *viridans*) powodują pospolite choroby u człowieka.

Grupa A

Streptococcus pyogenes (paciorkowiec ropny) wywołuje paciorkowcowe zapalenia gardła, prowadzące czasami do ostrej gorączki reumatycznej, płonicy (szkarlatyny), róży i ostrego zapalenia kłębuszków nerkowych. Uwalnia enzymy i toksyny: hemolizynę, leukocydynę, streptokineazę, DNA-azy.

Grupa B

Streptococcus agalactiae (paciorkowiec bezmleczności) [13] powoduje zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych u noworodków oraz starszych dzieci, czasami z bakteriecią. Kolonizuje drogi rodne kobiety, podnosząc ryzyko przedwczesnego pęknięcia błon płodowych.

Grupa C

Należy do niej *Streptococcus equi*, który powoduje zołży u koni, a także *Streptococcus zooepidemicus*, który powoduje zakażenia u kilku gatunków ssaków, w tym koni.

Grupa D

Wiele paciorkowców grupy D zostało ponownie sklasyfikowanych i umieszczonych w rodzaju *Enterococcus* (w tym *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus durans* i *Streptococcus avium*). Przykładowo *Streptococcus faecalis* (paciorkowiec kałowy) nosi teraz nazwę *Enterococcus faecalis* .

Pneumokoki

Streptococcus pneumoniae (dwoinka zapalenia płuc) - zwykle występują w jamie nosowej i gardle dzieci i zdrowych dorosłych. Szczególnie u małych dzieci bardzo łatwo dochodzi do zasiedlenia (nosicielstwa) śluzówki nosa i gardła pneumokokami, ponieważ dzieci mają niedojrzały układ odpornościowy i nie produkują wystarczającej ilości przeciwciał odpornościowych przeciw temu typowi bakterii.

Viridans i inne paciorkowce

Streptococcus viridans (paciorkowiec zieleniący) powoduje zapalenie wsierdza i ropień zęba.

Grupa G

Należą do niej: *Streptococcus canis*, *Streptococcus dysgalactiae* [14]

1.3. Paciorkowiec beta – hemolizujący grupy B (GBS)

1.3.1. *Streptococcus agalactiae* – charakterystyka

Streptococcus agalactiae (paciorkowiec bezmleczności) był w przeszłości istotnym patogenem głównie w weterynarii ze względu na wywoływane u bydła zapalenie gruczołów mlecznych. W roku 1938 po raz pierwszy stwierdzono GBS u ludzi w trzech śmiertelnych przypadkach posocznicy połogowej [15]. Wraz z pierwszymi publikacjami na temat infekcji okołoporodowych związanych z GBS, zależność pomiędzy występowaniem tej bakterii a złym stanem położnicy i noworodka stała się jasna, a istota zakażeń tym patogenem w odniesieniu do chorób u ludzi, szczególnie w okresie okołoporodowym,

została poznana. Obecnie infekcja GBS jest uznana za poważną infekcję, będącą jedną z głównych przyczyn zapalenia opon mózgowo - rdzeniowych, zapalenia płuc u noworodków, posocznicy, zgonu noworodka, septycznego poronienia, zakażenia błon płodowych i ich przedwczesnego pęknięcia, zapalenia błony śluzowej macicy, odmiedniczkowego zapalenia nerek, zapalenia tkanki podskórnej, posocznicy połogowej i innych zakażeń okołoporodowych [16, 17, 18, 19].

1.3.2. *Streptococcus agalactiae* – pobieranie materiałów do badań mikrobiologicznych – zalecenia wg PTG

Przesiewowe badania mikrobiologiczne w kierunku obecności GBS powinny być wykonane u wszystkich kobiet ciężarnych między 35 a 37 tygodniem ciąży. Wykorzystując dwie jałowe wymazówki należy pobrać wymazy z pochwy (dolna 1/3 część pochwy) oraz z odbytnicy (po pokonaniu oporu zwieracza odbytu). Przy pobieraniu materiału z pochwy nie jest konieczne stosowanie jednorazowego wziernika.

Wymazówki z pobranym materiałem należy umieścić osobno w podłożu transportowym Amiesa (namnażająco-różnicującym dla GBS) i jak najszybciej dostarczyć do pracowni mikrobiologicznej (podłoże transportowe utrzymuje żywotność GBS do 4 dni w temperaturze pokojowej lub w chłodzie) [2].

1.3.3. *Streptococcus agalactiae* – prowadzenie diagnostyki mikrobiologicznej

1.3.3.1. Wykonanie posiewu w kierunku GBS

Wymazówki wyjmujemy się z podłoża transportowego i przenosi do wybiórczego podłoża bulionowego Todda i Hewitta z dodatkiem gentamycyny (8 µg/ml) i kwasu nalidyksowego (15 µg/ml).

Tak posiane wybiórcze podłoże inkubuje się przez 18–24 godziny w temperaturze 35–37°C w atmosferze powietrza lub w atmosferze wzbogaconej 5% CO₂.

Następnie niewielką ilość hodowli na płynnym podłożu wybiórczym należy przenieść wymazówką na wzbogacone podłoże stałe (np. Columbia Blood Agar lub Blood Agar Base) z 5% odwłóknioną krwią baranią. Po nałożeniu, materiał należy rozsiać metodą redukcijną za pomocą ezy (posiew po wieloboku). Posiane płytki inkubuje się przez 18–24 godziny w temperaturze 35–37°C w atmosferze powietrza lub w atmosferze wzbogaconej 5% CO₂ [2].

1.3.3.2. Wstępna identyfikacja

Po uzyskaniu wzrostu, ocenia się te kolonie, które wykazują morfologiczne cechy GBS, tj. wąską strefę β-hemolizy. „Ponieważ strefa hemolizy czasami bywa trudna do zauważenia, należy uwzględnić także typowe kolonie paciorkowców, w których ona nie wystąpiła. Jeżeli 18–24-godzinna inkubacja nie wykazuje obecności GBS, próbkę należy inkubować ponownie i oceniać wzrost po 48 godzinach.

Z typowych lub prawdopodobnych kolonii wykonuje się preparat barwiony metodą Grama, poszukując pod mikroskopem ziarenkowców Gram(+).

W przypadkach obecności w hodowli kolonii otoczonych bardzo słabą lub nietypową strefą hemolizy typu β lub bez hemolizy, ale wykazujących pod mikroskopem morfologię ziarenkowców Gram(+), należy przeprowadzić różnicowanie z enterokokami. W tym celu kolonie bakteryjne wykazujące nietypowe cechy GBS przesiewa się na podłoże ze skrobią według Islama z dodatkiem inaktywowanej surowicy końskiej oraz na podłoże z żółcią i eskuliną (Bile Esculin) lub z żółcią, eskuliną i azydkiem sodu (Bile Esculin Azide) do izolacji i wstępnej identyfikacji paciorkowców grupy D (enterokoków). Płytki z podłożem ze skrobią i surowicą inkubuje się przez 18–24 godziny w 37°C w warunkach beztlenowych, natomiast płytki z podłożem z żółcią i eskuliną inkubuje się przez 18–24 godziny w cieplarni w 37°C w warunkach tlenowych. Kolonie *Streptococcus agalactiae* wytwarzają żółto-pomarańczowy barwnik na podłożu według Islama, natomiast na podłożu z żółcią i eskuliną nie wytwarzają czarnego barwnika lub nie wyrastają wcale.

W wątpliwych przypadkach badany szczep można dodatkowo poddać testowi CAMP, który polega na posianiu, przez środek płytki z agarem wzbogaconym krwią, szczepu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, zaś prostopadle do niego badanego szczepu paciorkowca i inkubacji przez 18–24 godziny w cieplarni w 37°C. W przypadku powstania charakterystycznej trójkątnej strefy β -hemolizy można zidentyfikować wstępnie taki szczep jako *Streptococcus agalactiae* [2].

1.3.3.3. Szczegółowa identyfikacja *Streptococcus agalactiae*

1.3.3.3.1. Metody fenotypowe

„Do potwierdzenia przynależności wyizolowanych paciorkowców do grupy serologicznej B służy lateksowy test aglutynacyjny do oznaczania grup serologicznych paciorkowców. Test ten przeprowadza się stosując metodykę wskazaną przez producenta.

W wątpliwych przypadkach zaleca się przeprowadzenie identyfikacji gatunkowej wyizolowanego szczepu za pomocą komercyjnych, biochemicznych zestawów identyfikacyjnych dla paciorkowców lub metody PCR (jeśli laboratorium nie dysponuje możliwościami wykonania takich badań, powinno przekazać szczep do jednostki mogącej je przeprowadzić)” [2].

1.3.3.3.2. Metoda genotypowa

„Metodę PCR (łańcuchowa reakcja polimerazy) z użyciem gatunkowo specyficznych starterów Sag59 i Sag190 wykonuje się w laboratoriach referencyjnych w następujący sposób.

Wyposażenie i sprzęt:

- termocykler MJ Research PTC-200;
- zestaw pipet automatycznych o zakresie objętości pipetowania 0,5–1000 μ l;
- statyw na próbówki do PCR chłodzony lodem;
- jałowe próbówki plastikowe typu Eppendorf o pojemności 0,5 ml oraz jałowe próbówki do PCR o objętości 0,2 ml;
- komora z przepływem laminarnym;

- lodówka.

Odczynniki:

- jałowa woda bidestylowana przygotowywana w jednorazowych porcjach po 1 ml;

- bufor do polimerazy stężony 10× o składzie: 100 mM Tris HCl, pH 8,8; 500 mM KCl; 1,0% TritonX-100, 20 mM;

- mieszanka czterech deoksyrybonukleotydów (dNTP) o stężeniu 200 μM każdy;

- sekwencje starterów – sekwencja (5`–3`):

Sag59 TTT CAC CAG CTG TAT TAG AAG TA

Sag190 GTT CCC TGA ACA TTA TCT TTG AT

- gotowe startery przechowuje się w postaci stężonej 100 μM – roztwór wykorzystywany w reakcji to 10 pmoli;

- chlorek magnezu (MgCl₂) o stężeniu 50 mM;

- termostabilna polimeraza Pwo (Delta2) o stężeniu 2U/μl;

- matryca wyizolowanego DNA otrzymana przy użyciu mikrokolumnienek do izolacji bakteryjnego DNA lub metodą termiczną przez gotowanie;

- wszystkie odczynniki przechowuje się w temperaturze –20°C i rozmraża tuż przed ich użyciem.

Opis postępowania

Wszystkie czynności związane z przygotowaniem mieszaniny reakcyjnej PCR powinny być wykonywane pod nawiewem laminarnym.

- Mieszaninę PCR przygotowuje się na lodzie, w celu uniknięcia otrzymania niespecyficznego produktu amplifikacji DNA.

- Mieszaninę reakcyjną PCR należy przygotować w objętości odpowiadającej liczbie badanych próbek. Objętość mieszaniny przewidziana na 1 próbkę wynosi 25 μl.

Mieszaninę wykonuje się według poniższego przepisu, dodając odczynniki w przedstawionej kolejności. Matrycę DNA dodaje się na końcu, indywidualnie do każdej próbki:

MIX 1× [μl]

1. Woda 11,25
2. Bufor do polimerazy (10×) 2,5
3. dNTP 2,5
4. Sag59 2,5
5. Sag190 2,5
6. MgCl₂ 1,5
7. Polimeraza 2U/μl 0,25
8. Matryca DNA 2,0

Przygotowaną mieszaninę reakcyjną umieszcza się w termocyklerze uprzednio podgrzanym do temperatury 95°C.

• Ustawia się amplifikację zgodnie z poniższym programem:

94°C – 3 min.

95°C – 1 s 40×

55°C – 30 s

72°C – 2 min.

72°C – 5 min.

Po zakończonej reakcji amplifikacji nakłada się próbki na żel agarozowy w objętości 10 μl w celu uwidocznienia produktu reakcji PCR.

Wynik badania metodą PCR uznaje się za wiarygodny, jeśli na żelu agarozowym uzyskuje się prążek o masie 153 pz oraz jeśli próbka kontrolna w postaci jałowej wody daje wynik negatywny (brak prążka), a próbka kontrolna w postaci DNA wyizolowanego ze szczepu

wzorcowego *Streptococcus agalactiae* 2134 DSMZ daje wynik pozytywny (obecny prążek o masie 153 pz).” [2, 20, 21].

1.3.3.4. Badanie oporności na antybiotyki ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmu odporności na makrolity i linkomycynę (MLS_B)

„Laboratorium mikrobiologiczne jest zobowiązane wykonać oznaczenie u wyizolowanego szczepu *Streptococcus agalactiae* wrażliwości na erytromycynę i klindamycynę wraz z identyfikacją fenotypu MLS_B, a także oznaczenie wrażliwości na penicylinę (krążek 10 IU) lub ampicylinę (krążek 10 µg). Wykonanie oznaczenia wrażliwości na penicylinę lub ampicylinę może zostać pominięte, jeśli laboratorium prowadzi właściwą kontrolę jakości w zakresie identyfikacji szczepów. W takiej sytuacji na wyniku badania należy umieścić komentarz o tym, że szczep jest wrażliwy na penicylinę” [2].

Do tej pory nigdy jeszcze nie wykryto szczepów *Streptococcus agalactiae*, które byłyby odporne na penicylinę. Stwierdzenie oporności lub obniżonej wrażliwości na penicylinę może być skutkiem błędu w identyfikacji szczepu bądź w wykonaniu badania lekowrażliwości (po wykonaniu kontroli wewnętrznej i niestwierdzeniu błędów należy skonsultować wynik w ośrodku referencyjnym).

Coraz częściej natomiast wykazuje się oporność tych paciorkowców na makrolidy, linkozamidy i streptograminy B w wyniku nabycia przez nie mechanizmu oporności MLS_B typu konstytutywnego lub typu indukcyjnego. Uh i wsp. wykazali znaczny wzrost częstości izolacji szczepów GBS opornych na erytromycynę (z 0% w latach 1990–1995 do 41% w 2002 roku) oraz klindamycynę (z 0% w latach 1990–1993 do 48% w 2002 roku). Z związku z tym dla *Streptococcus agalactiae* należy oznaczyć obydwa typy oporności MLS_B.

Aby wykryć mechanizm oporności MLS_B należy posługiwać się metodą dyfuzyjno-krażkową, stosując podłoże Muellera i Hinton z dodatkiem 5% krwi baraniej. Po posianiu płytki z podłożem hodowlą badanego szczepu GBS, doprowadzoną do gęstości 0,5 według skali McFarlanda, umieszcza się w odległości 2 cm od siebie 2 krążki: nasycony klindamycyną (2 µg) i nasycony erytromycyną (15 µg). Płytki inkubuje się w temperaturze 37°C w warunkach tlenowych przez 24 godziny. Następnie mierzy się strefy zahamowania wzrostu (w mm), a interpretację wyniku przeprowadza się zgodnie z wytycznymi National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) dotyczącymi szczepów *Streptococcus* innych niż *Streptococcus pneumoniae*.

W przypadku oporności MLS_B typu konstytutywnego badany szczep GBS wykazuje oporność lub średnią wrażliwość na klindamycynę (2 µg) – średnica strefy zahamowania wzrostu wynosi ≤ 21 mm, oraz oporność lub średnią wrażliwość na erytromycynę (15 µg) – średnica strefy zahamowania wzrostu wynosi ≤ 23 mm.

W przypadku oporności MLS_B typu indukcyjnego badany szczep GBS wykazuje oporność lub średnią wrażliwość na erytromycynę (15 µg) oraz wrażliwość na klindamycynę (2 µg), przy czym musi powstawać charakterystyczna, ścięta strefa zahamowania wzrostu wokół krążka z klindamycyną.

Po stwierdzeniu obecności fenotypu MLS_B laboratorium umieszcza na wyniku informację o jego obecności bez wyszczególniania podtypu (indukcyjny lub konstytutywny) wraz z odpowiednim objaśnieniem, np. MLS_B – wykluczone stosowanie makrolidów (erytromycyna) i linkozamidów (klindamycyna). Równocześnie, przy erytromycynie i klindamycynie należy zmienić wynik oznaczenia na „oporny”, albo nie podawać wyników oznaczenia wrażliwości dla tych leków.

W rzadkich przypadkach można wykryć fenotyp oporności inny niż MLS_B – oporność/średnią wrażliwość na erytromycynę albo klindamycynę (na jeden z tych

antybiotyków przy zachowanej pełnej wrażliwości na drugi). W takiej sytuacji pracownia podaje wynik jak dla typowego oznaczenia lekooporności.

Nie ma potrzeby wykonywania oznaczenia wrażliwości na inne antybiotyki niż wymienione. Paciorkowce są powszechnie wrażliwe na wankomycynę i teikoplaninę, a stosowanie innych leków (np. lewofloksacyna, moksyflokscyna, linezolid, tygecyklina) nie dotyczy profilaktyki okołoporodowej i wymaga przy zakażeniach *Streptococcus agalactiae* wcześniejszej konsultacji mikrobiologa klinicznego.

Laboratorium może użyć innych metod oznaczenia lekowrażliwości niż metoda krążkowo-dyfuzyjna (metody zautomatyzowane, Etesty itp.), o ile gwarantują one wykrycie u paciorkowca obu podtypów mechanizmu MLS_B. Stosowanie metod biologii molekularnej (np. wykrywanie genów *erm* odpowiedzialnych za mechanizm MLS_B) nie jest konieczne, a ich prowadzenie nie zwalnia od wykonania oznaczenia metodami fenotypowymi, ponieważ stanowią one tylko pomoc przy trudnościach interpretacyjnych” [2, 22].

1.4. *Streptococcus agalactiae* - okołoporodowa profilaktyka antybiotykowa

W przypadku stwierdzenia nosicielstwa GBS należy wpisać stosowną informację do karty ciąży (wraz z wynikiem oznaczenia lekowrażliwości) oraz proponowaną profilaktykę okołoporodową. Ginekolog prowadzący ciążę zobowiązany jest także do zaproponowania profilaktyki w następujących sytuacjach:

- „- wynik badania mikrobiologicznego jest ujemny, ale w wywiadzie pacjentka podaje wystąpienie zakażenia okołoporodowego *Streptococcus agalactiae* u któregoś z poprzednich dzieci;
- wynik badania mikrobiologicznego jest ujemny, ale wcześniej w obecnej ciąży stwierdzono obecność *Streptococcus agalactiae* w moczu” [2].

Nie wolno podejmować prób eradykacji nosicielstwa GBS antybiotykami podczas ciąży i odstępować od profilaktyki okołoporodowej, ponieważ wiąże się to z szybkim nawrotem nosicielstwa po odstawieniu leku i ryzykiem zarażenia noworodka w trakcie porodu [1,2].

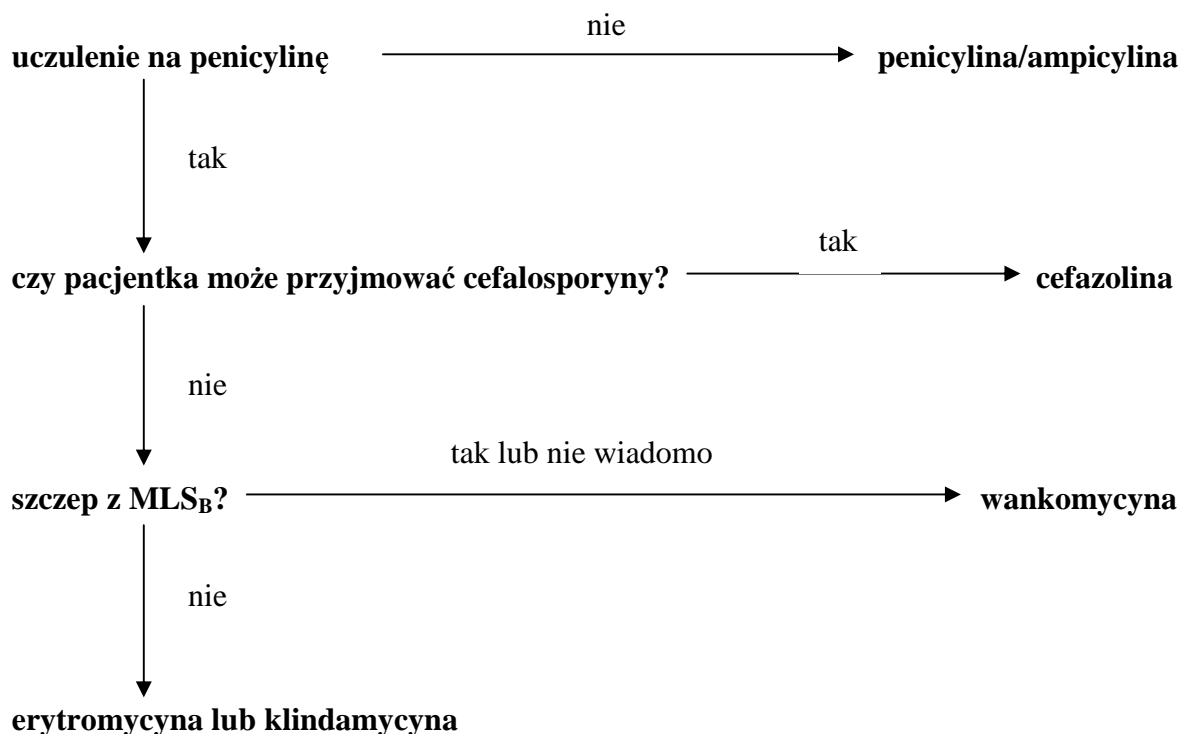
Profilaktykę okołoporodową *Streptococcus agalactiae* należy wdrożyć u kobiet, u których:

- w 35–37 tygodniu wykryto obecność *Streptococcus agalactiae* – stosuje się antybiotyki zgodnie z wytycznymi;
- istnieją inne wskazania do zastosowania profilaktyki pomimo ujemnego wyniku badania mikrobiologicznego;
- poród rozpoczął się przed wykonaniem planowych badań na nosicielstwo *Streptococcus agalactiae*;
- nieznane są wyniki badań nosicielstwa, a od momentu pęknięcia błon płodowych do chwili zgłoszenia się do szpitala upłynęło ≥ 18 godzin;
- nieznane są wyniki badań nosicielstwa, ale temperatura ciała ciężarnych wynosi $\geq 38^{\circ}\text{C}$.

Profilaktykę należy rozpocząć jak najszybciej po przyjęciu do szpitala (lub innej jednostki), ponieważ od tego zależy skuteczność ochrony dziecka przed zakażeniem. Zalecanym lekiem jest penicylina G podawana dożylnie w pierwszej dawce wynoszącej 5 mln jednostek, a następnie 2,5 mln jednostek co 4 godziny aż do porodu. Możliwe jest zastąpienie jej ampicyliną w pierwszej dawce dożylniej 2 g i potem 1 g co 4 godziny dożylnie aż do porodu [1, 2].

Jeśli pacjentka jest uczulona na penicylinę, to w przypadku szczepu bez fenotypu MLS_B należy zastosować dożylnie erytromycynę w dawce 500 mg co 6 godzin, albo klindamycynę w dawce dożylniej 900 mg co 8 godzin aż do porodu. W sytuacji, kiedy mamy do czynienia ze szczepem z fenotypem MLS_B , zaleca się dożylnie stosowanie wankomycyny 1 g co 12 godzin aż do porodu. W przypadku, gdy pacjentka jest uczulona na penicylinę, ale może przyjmować cefalosporyny (na podstawie dokumentacji

medycznej) zamiast klindamycyny, erytromycyny lub wankomycyny, należy podać cefazolinę w początkowej dawce dożylniej 2 g i potem 1 g co 8 godzin aż do porodu (ryc. 1).



Rycina 1. Algorytm doboru antybiotyku do profilaktyki okołoporodowej (rekomendacje PTG).

W sytuacji, gdy brak informacji o obecności fenotypu MLS_B (nie wykonano badań mikrobiologicznych), należy postępować tak, jakby ten fenotyp był obecny.

W przypadku, gdy GBS jest oporny/średnio wrażliwy na klindamycynę lub erytromycynę (na jeden antybiotyk przy pełnej wrażliwości na drugi) bez fenotypu MLS_B , dopuszcza się podanie antybiotyku, na który bakteria jest w pełni wrażliwa, jednak bezpieczniej jest traktować szczep, jakby dysponował fenotypem MLS_B .

Aktywniejsza mikrobiologicznie od wankomycyny wobec paciorkowców jest teikoplanina, ale brak jest badań klinicznych nad jej skutecznością w profilaktyce okołoporodowej, w związku z tym należy ostrożnie stosować ten antybiotyk.

Nie należy podawać innych β -laktamów niż penicylina, ampicylina i cefazolina [1, 2].

1.5. Postępowanie z noworodkiem w przypadku nosicielstwa GBS u matki

Noworodki matek, u których włączono okołoporodową profilaktykę antybiotykową w kierunku GBS, powinny być poddane obserwacji przez co najmniej 24 godziny. Pełnej diagnostyce w kierunku zakażenia *Streptococcus agalactiae* (pobranie materiału mikrobiologicznego z pępka i ucha) muszą być poddane noworodki, u których pojawią się oznaki zakażenia. Te dzieci powinny być leczone empirycznie, np. ampicyliną.

W zależności od dojrzałości noworodka, objawów klinicznych zaleca się następujące postępowanie:

- noworodki o dojrzałości powyżej 34 tygodnia ciąży, bez objawów klinicznych zakażenia, których matki otrzymały profilaktykę okołoporodową na minimum 4 godziny przed urodzeniem dziecka - obserwacja dziecka w oddziale przez 24–48 godzin, bez wykonywania badań dodatkowych, mających na celu wykluczenie zakażenia GBS, w przypadku braku objawów zakażenia tym okresie - wypisanie dziecka do domu,
- noworodki o dojrzałości powyżej 34 tygodnia ciąży, bez objawów klinicznych zakażenia, których matki otrzymały profilaktykę okołoporodową w okresie krótszym niż 4 godziny przed urodzeniem dziecka - jeżeli nie występują objawy kliniczne infekcji - obserwacja dziecka przez 24–48 godzin oraz (nie jest to obligatoryjne) wykonanie badania CRP w surowicy krwi: 2–3 x co 12 godzin.

Ewentualnie przeprowadzenie rutynowego badania morfologii krwi, badanie mikrobiologiczne krwi nie jest konieczne. Jeżeli wyniki badań są prawidłowe i brak objawów klinicznych, można dziecko wypisać do domu.

Jeżeli w czasie obserwacji wystąpią objawy kliniczne infekcji należy:

- wykonać badanie mikrobiologiczne krwi;
- rozpocząć antybiotykoterapię empiryczną – lek z grupy penicylin (np. ampicylina) w skojarzeniu z aminoglikozydem – którą należy kontynuować i ewentualnie modyfikować w zależności od stanu klinicznego noworodka i wyników badań.

Noworodki o dojrzałości poniżej 35 tygodnia ciąży, niezależnie od zastosowania profilaktyki śródporodowej u matki:

- jeżeli nie występują objawy kliniczne infekcji - należy prowadzić obserwację dziecka przez 24–48 godzin oraz zalecane jest wykonanie badania stężenia CRP w surowicy krwi: 2–3 x co 12 godzin. Można też wykonać rutynowe badanie morfologii krwi.
- jeżeli występują objawy niewydolności oddechowej (zespół zaburzeń oddechowych – ZZO) - należy wykonać badanie mikrobiologiczne krwi oraz rozpocząć antybiotykoterapię empiryczną lekiem z grupy penicylin (np. ampicylina).

Wszystkie noworodki urodzone przez matki, u których rozpoznano *chorioamnionitis* oraz PROM i kolonizację GBS, lub samo PROM, niezależnie od występowania objawów klinicznych zakażenia wymagają:

- wykonania pełnego zestawu badań w celu potwierdzenia lub wykluczenia sepsy oraz zakażenia ośrodkowego układu nerwowego (meningitis);
- rozpoczęcia antybiotykoterapii empirycznej – lek z grupy penicylin (np. ampicylina) w skojarzeniu z amino glikozydem [2].

1.6. Powikłania u noworodków matek GBS dodatnich

Najczęstszą przyczyną zachorowalności i śmiertelności w okresie noworodkowym są nadal infekcje. Badanie przedmiotowe i manifestowane przez dziecko objawy są często niewystarczające do prawidłowej oceny chorych noworodków. Nawet pozornie banalny objaw np. wymioty, może być zarówno elementem zaburzeń adaptacyjnych, objawem patologii układu pokarmowego jak i wykładnikiem zaczynającej się infekcji. W neonatologii nie mówi się już o tradycyjnym podziale na bakterie chorobotwórcze i niechorobotwórcze, ponieważ bakterie uznane za saprofityczne mogą być przyczyną uogólnionego zakażenia. Należy pamiętać, że na fizjologiczne niedobory układu immunologicznego u noworodków nakładają się często inne czynniki blokujące układ odpornościowy, takie jak niedotlenienie, kwasica, hipotermia. Noworodek z niedojrzałym układem immunologicznym jest bardzo podatny na rozwinięcie infekcji powstałej wewnątrzmacicznie lub okołoporodowo [23].

Od drugiej połowy XX wieku paciorkowce z grupy B zaczęły pojawiać się jako bakterie odpowiedzialne za infekcje noworodkowe i połogowe matek [24, 25, 26].

Dla noworodka poród jest najczęściej zdarzeniem rozpoczynającym kolonizację, czy też infekcję. Noworodek wdycha lub połyka płyny zawierające paciorkowce. Oczywiście do infekcji może dojść przed porodem – noworodek może urodzić się już z objawami wstrząsu septycznego. Dominuje wstępująca droga z pochwy do macicy przez pęknięte błony płodowe. Kolonizacja horyzontalna np. przez personel pielęgniarstwa, matkę lub chore noworodki jest odpowiedzialna głównie za infekcje o późnym początku.

Patogenność GBS jest związana z wieloma czynnikami. Jednym z nich jest polisacharydowa otoczka bakterii uniemożliwiająca aktywację układu dopełniacza, a w konsekwencji fagocytozę i lizę bakterii. Niski poziom przeciwciał przeciwootczkowych u

dziecka po porodzie (klasa IgG2) przyczynia się również do bezkarności tego drobnoustroju [27]. Czynnikiem wzmacniającym GBS jest fakt, że może on rosnąć w warunkach zarówno tlenowych jak i beztlenowych.

Obecność GBS w drogach rodnych jest najważniejszym czynnikiem determinującym noworodkową infekcję. Ponieważ tylko 1% skolonizowanych dzieci rozwija infekcję, już przed kilkoma laty określono czynniki ryzyka predysponujące do jej wystąpienia [28, 29].

Są to:

- wcześniactwo,
- przedwczesne pęknięcie błon płodowych (szczególnie przed 37 Hbd),
- odpływanie płynu owodniowego powyżej 18 godzin,
- gorączka śródporodowa matki,
- urodzenie dziecka z infekcją GBS w wywiadzie,
- infekcja GBS w ciąży, zwłaszcza infekcja układu moczowego,
- cukrzyca matki.

Zakażenia paciorkowcami grupy B są istotną przyczyną występowania powikłań u dziecka w okresie okołoporodowym. 2/3 infekcji to infekcje o wczesnym początku (EOD – *early onset disease*), często przebiegające burzliwie i gwałtownie, rozpoczynające się w pierwszych godzinach życia u noworodków <7 doby i obarczone dużą śmiertelnością. Najczęstszą postacią jest posocznica, zapalenie płuc bądź zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. Późna postać zakażenia GBS (LOD – *late onset disease*) dotyczy dzieci pomiędzy 7 a 89 dobą życia i również może przyjmować postać posocznicy i zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, ale także zakażenia układu moczowego i oddechowego, zapalenia stawów oraz tkanki łącznej. Nie ma charakterystycznego objawu czy badania różnicującego infekcje wywołane przez GBS od innych infekcji [30, 31].

W krajach, w których stosowana jest śródporodowa profilaktyka antybiotykowa, częstość występowania EOD jest obecnie stosunkowo niska: 0,28-0,53 na 1000 żywych urodzeń [32, 33, 34, 35]. Dla porównania w ośrodku brazylijskim, gdzie nie stosowano antybiotykowej profilaktyki śródporodowej, częstość występowania EOD była bardzo wysoka – 10,8/1000 żywych urodzeń przy 50% odsetku śmiertelności [36].

1.7. *Streptococcus pyogenes* – uwagi dotyczące zakażeń poporodowych

W ostatnich latach u kobiet po porodzie obserwuje się narastającą częstość zakażeń spowodowanych przez *Streptococcus pyogenes*. Z uwagi na to grupa ekspertów, która opracowała „Zalecenia dotyczące wykrywania nosicielstwa paciorkowców grupy B (GBS) u kobiet w ciąży i zapobiegania zakażeniom u noworodków spowodowanym przez ten drobnoustrój” umieściła w swoim opracowaniu również wskazania dotyczące *Streptococcus pyogenes*. Duża zjadliwość tej bakterii i poważne zagrożenie dla życia kobiet w przypadku zakażeń inwazyjnych, powoduje, że niezbędne może okazać się opracowanie szczegółowych zaleceń, dotyczących profilaktyki i leczenia empirycznego. Obecnie (do czasu powstania zaleceń) autorzy proponują posługiwanie się poniższymi wskazaniami.

1.7.1. Postępowanie okołoporodowe

„Nie ustalono jeszcze zasady postępowania w przypadku stwierdzenia kolonizacji samym *Streptococcus pyogenes*. Decyzję, czy rozpocznie się ewentualne podawanie antybiotyków (jak dla *Streptococcus agalactiae*), pozostawia się położnikowi. Autorzy ze swej strony

zalecają zastosowanie profilaktyki okołoporodowej, takiej jak dla *Streptococcus agalactiae*.

W przypadku współistnienia kolonizacji *S. agalactiae* i *S. pyogenes* profilaktyka okołoporodowa penicyliną, cefazoliną lub wankomycyną wybrana dla *S. agalactiae* obejmuje również *S. pyogenes*. Jeśli rozważane jest podanie klindamycyny lub erytromycyny należy kierować się wrażliwością obu gatunków.

Jeśli u kobiety, bez potwierdzonej mikrobiologicznie kolonizacji *S. pyogenes*, wykonywany jest zabieg cesarskiego cięcia, typowa prawidłowa okołooperacyjna profilaktyka antybiotykowa wdrażana u każdej pacjentki chroni w wystarczającym stopniu przed ewentualnym zakażeniem *S. pyogenes*.” [2].

1.7.2. Postępowanie po porodzie

„Obserwacja stanu klinicznego położnicy przez 24–48 godzin umożliwia wykrycie rozwijającego się zakażenia *S. pyogenes*. Jeśli u położnicy w tym okresie pojawią się objawy zakażenia, należy pobrać krew i wymaz z miejsca zakażenia do badania mikrobiologicznego, a także niezwłocznie (każde opóźnienie znacząco zwiększa ryzyko zgonu) rozpocząć antybiotykoterapię empiryczną dużymi dawkami penicyliny (24 mln j. iv dziennie w 4 lub 6 dawkach podzielonych, albo we wlewie ciągłym) w skojarzeniu z klindamycyną (900 mg 3 × dziennie). U pacjentek uczulonych na penicylinę należy zastosować wankomycynę (25 mg/kg m.c. w pierwszej dawce we wlewie w tempie 500 mg/godz.; kolejne dawki iv to 15 mg/kg m.c. co 12 godzin) lub teikoplaninę (12 mg/kg m.c. co 12 godzin; po podaniu 3 takich dawek 12 mg/kg m.c. co 24 godzin) w skojarzeniu z klindamycyną (900 mg 3 × dziennie).

Dalsze leczenie antybiotykami wymaga kierowania się wynikami badań mikrobiologicznych oraz zaleca się konsultację mikrobiologa klinicznego, a w razie potrzeby także farmakologa. Ponadto całą sytuację należy zgłosić Zespołowi Kontroli Zakażeń działającemu w szpitalu. Zespół powinien ocenić, czy zakażenie nie ma charakteru epidemicznego.” [2].

1.7.3. Diagnostyka mikrobiologiczna

1.7.3.1. Metody fenotypowe:

„- potwierdzenie przynależności wyizolowanych paciorkowców do grupy serologicznej A przeprowadza się za pomocą lateksowego testu aglutynacyjnego do oznaczania grup serologicznych paciorkowców, stosując metodykę wskazaną przez producenta;
- przeprowadzenie identyfikacji potwierdzającej prawidłowość identyfikacji wyizolowanego szczepu *S. pyogenes* za pomocą biochemicznego zestawu API 20Strep (bio Merieux).” [2]

1.7.3.2. Metody genotypowe

„W laboratoriach referencyjnych potwierdzenie przynależności gatunkowej dla *S. pyogenes* należy przeprowadzić za pomocą metody PCR przy użyciu gatunkowo specyficznych starterów:

- spy1258F: 5-AAAGACCGCCTTAACACCT-3;
- spy1258R: 5-GGCAAGGTAACTTCTAAAGCA-3, zgodnie z procedurą Liu.

Wynik badania metodą PCR uznaje się za prawidłowy, jeśli na żelu agarowym uzyskuje się prążek odpowiadający masie 407 pz. Kontrolę negatywną przeprowadza się na jałowej wodzie destylowanej, zaś kontrolę pozytywną stanowi DNA wyizolowane ze szczepu wzorcowego *S. pyogenes* (np. ATCC 10389).” [2]

1.7.4. Badanie oporności na antybiotyki ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmu MLS_B

„Po wykryciu podczas diagnostyki w kierunku *S. agalactiae* obecności paciorkowca β -hemolizującego grupy serologicznej A (i potwierdzeniu identyfikacji gatunkowej jako *S. pyogenes*), należy wykonać w laboratorium mikrobiologicznym takie samo oznaczenie lekowrażliwości (z identyfikacją fenotypu MLS_B) jak dla *S. agalactiae*. Na wyniku należy umieścić informację o wyizolowanym szczepie i jego lekowrażliwości” [2].

2. Cel pracy

Celem pracy jest ocena skuteczności antybiotykoterapii okołoporodowej u matek GBS (+), w odniesieniu do noworodków, w zależności od sposobu ukończenia ciąży, długości stosowania i momentu włączenia leczenia, wystąpienia lub nie przedwczesnego pęknięcia błon płodowych (PROM) oraz ocena skutków ambulatoryjnej eradykacji *Streptococcus agalactiae* podczas ciąży.

3. Materiał i metoda

Program badawczy ma charakter badań retrospektywnych. W badaniu wykorzystano dokumentację medyczną dotyczącą 418 pacjentek w ciążach pojedynczych, donoszonych, które rodziły w Oddziale Położniczo - Ginekologicznym Wojewódzkiego Szpitala Zespolonego im. L. Perzyny w Kaliszu w roku 2011, u których stwierdzono kolonizację pochwy paciorkowcem beta-hemolizującym i które w różnym stopniu były poddane antybiotykoterapii okołoporodowej (różnie długi okres podawania leku). 150 pacjentek poddanych analizie rodziło siłami natury, a kolejne 150 cięciem cesarskim. Podstawą do włączenia tych pacjentek do badania był dodatni wynik posiewu w kierunku GBS wykonany między 35 -37 Hbd. Antybiotykiem pierwszego rzutu w profilaktyce zakażeń GBS była ampicylina podawana dożylnie w dawce 2 g – pierwsza dawka, następnie 1 g co 4 godziny do momentu porodu, w przypadku uczulenia na penicyliny, podawana była wankomycyna dożylnie w dawce 1g co 12 godzin.

Grupę kontrolną stanowiło 86 pacjentek, u których, ze względu na zbyt krótki okres czasu od momentu przybycia do szpitala do porodu (przyjęte w II okresie porodu) lub ze względu na brak wyniku posiewu i brak wskazań w wywiadzie do włączenia profilaktyki, antybiotykoterapia okołoporodowa nie została włączona. Pacjentki z tej grupy, które nie miały wykonanego posiewu w czasie ciąży zostały zakwalifikowane do badania ze względu na obecność bakterii GBS w posiewach pobranych od dzieci po porodzie.

Ponadto wyodrębniono osobną grupę 32 pacjentek, u których, po stwierdzeniu dodatniego wyniku posiewu w kierunku GBS, ambulatoryjnie przez lekarza prowadzącego zastosowana została, niezgodnie z zaleceniami PTG, antybiotykoterapia już podczas ciąży celem przedporodowej eradykacji GBS. U tych pacjentek również włączono profilaktykę okołoporodową wg zalecanego schematu.

W każdej z grup pacjentek wyodrębniono te, u których wystąpiło przedwczesne pęknięcie błon płodowych, a także dokonano podziału z uwzględnieniem długości czasu stosowania antybiotykoterapii okołoporodowej (≥ 4 lub < 4 godzin).

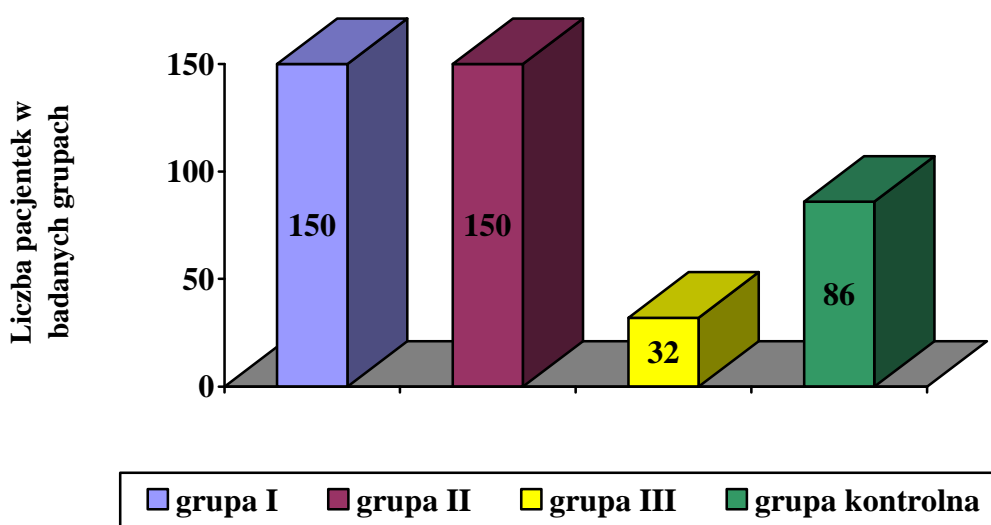
Na podstawie dokumentacji medycznej dokonano także analizy stanu pourodzeniowego 418 noworodków w/w pacjentek i wystąpienia u nich powikłań zależnych od kolonizacji paciorkowcem GBS. Brano również pod uwagę te dzieci, u których stwierdzono podwyższone stężenie CRP we krwi, bez objawów klinicznych zakażenia. U wszystkich tych noworodków konieczne było wdrożenie leczenia po porodzie. Porównano częstość wystąpienia powikłań w zależności od rodzaju porodu, długości antybiotykoterapii okołoporodowej, momentu jej włączenia i wystąpienia lub nie PROM.

Do przeprowadzenia analizy statystycznej wykorzystany został program CSS-STATISTICA v.6 oraz zastosowany był test niezależności χ^2 i test nieparametryczny Kruskala - Wallisa. Hipotezy statystyczne weryfikowane były na poziomie istotności $p < 0,05$.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (uchwała nr 965/11 z dnia 05.01.2012r.).

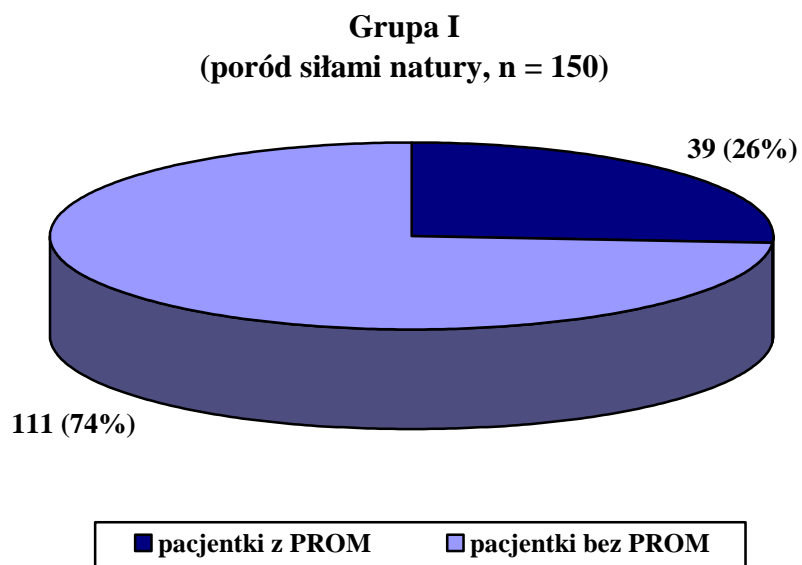
4. Wyniki

Średnia wieku kobiet wynosiła 27,9 lat (18 - 42 lata). Kobiety poddane profilaktyce okołoporodowej (n = 150), które rodziły siłami natury zaliczono do grupy I, 150 pacjentek, które otrzymało antybiotyk i u których wykonano cięcie cesarskie – do grupy II, a 32 pacjentki poddane już ambulatoryjnie antybiotykoterapii w celu eradykacji bakterii w czasie ciąży – do grupy III. Grupę kontrolną stanowiło kolejnych 86 kobiet, które z powodu zbyt krótkiego czasu od momentu przybycia do szpitala do porodu (przyjęte w II okresie porodu) lub ze względu na brak wyniku posiewu i brak wskazań w wywiadzie do stosowania profilaktyki okołoporodowej, nie zostały poddane antybiotykoterapii. Powyższe dane przedstawia rycina 2.

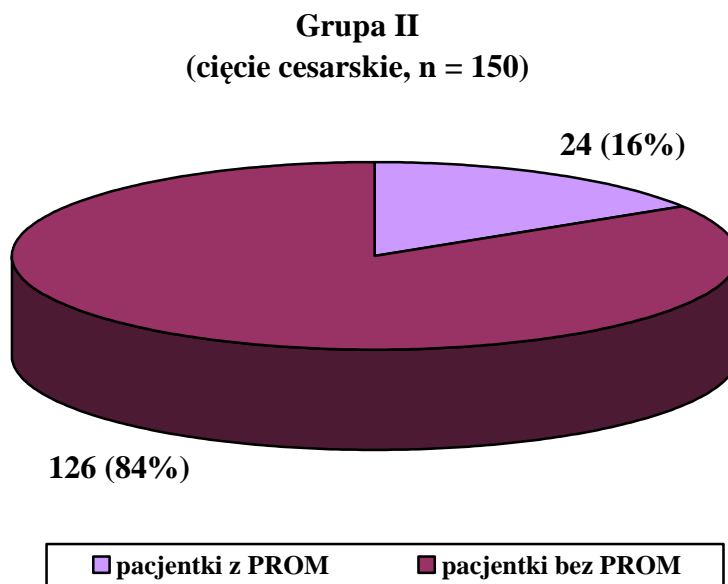


Rycina 2. Liczba pacjentek zakwalifikowanych do badania w poszczególnych grupach.

W grupie I PROM występował u 39 ciężarnych, w grupie II u 24 ciężarnych, w grupie III u 12 pacjentek, a w grupie kontrolnej u 27 kobiet. (Ryciny 3, 4, 5, 6).

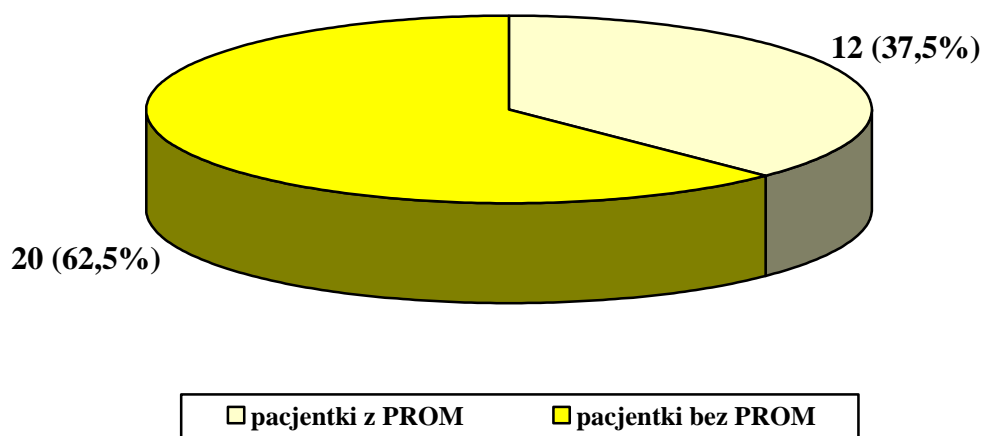


Rycina 3. Liczba pacjentek z PROM i bez PROM w grupie I.



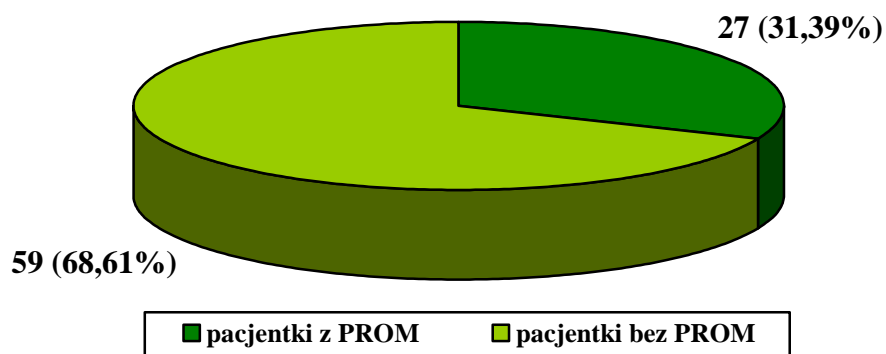
Rycina 4. Liczba pacjentek z PROM i bez PROM w grupie II.

Grupa III
(pacjentki po eradykacji GBS, n = 32)



Rycina 5. Liczba pacjentek z PROM i bez PROM w grupie III.

Grupa kontrolna
(pacjentki bez antybiotykoterapii, n = 86)

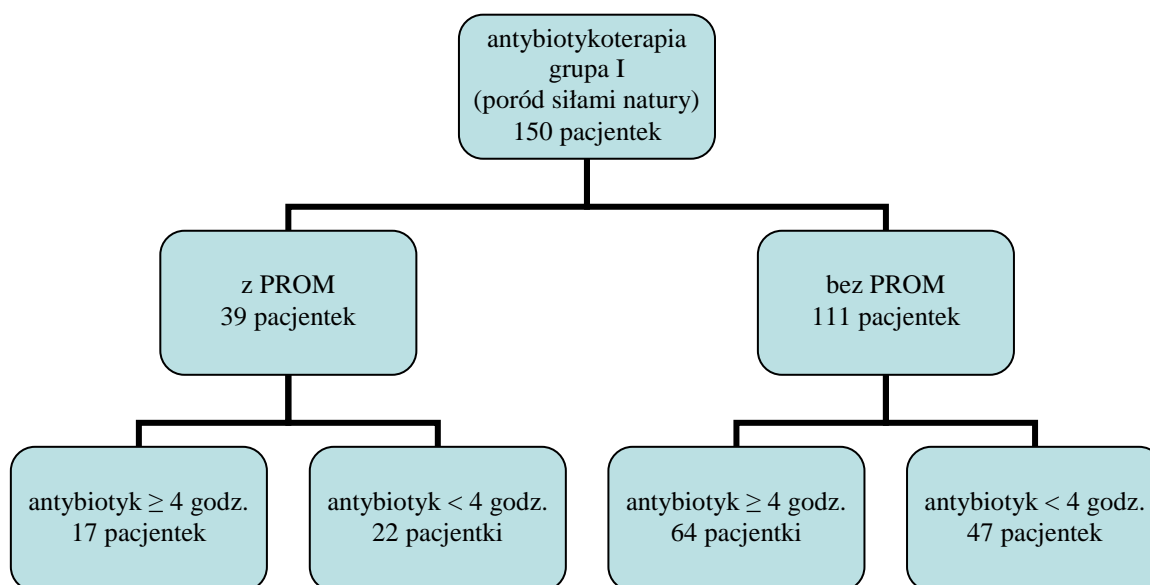


Rycina 6. Liczba pacjentek z PROM i bez PROM w grupie kontrolnej.

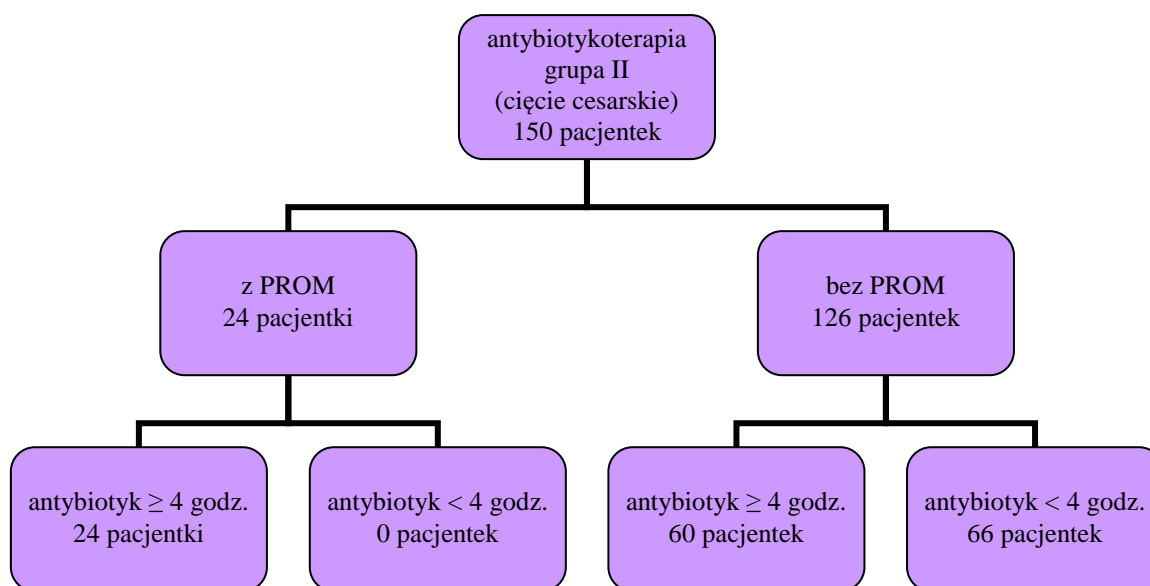
Antybiotykoterapia okołoporodowa ≥ 4 godzin była zastosowana u 81 pacjentek rodzących siłami natury (w tym u 17 z PROM) oraz u 84 kobiet, u których ciążę rozwiązano cięciem cesarskim (w tym u 24 z PROM).

Spośród 32 pacjentek, u których podjęta była próba eradykacji GBS w ciąży, antybiotykoterapia okołoporodowa ≥ 4 godzin zastosowana była u 19 z nich (w tym u 8 z PROM).

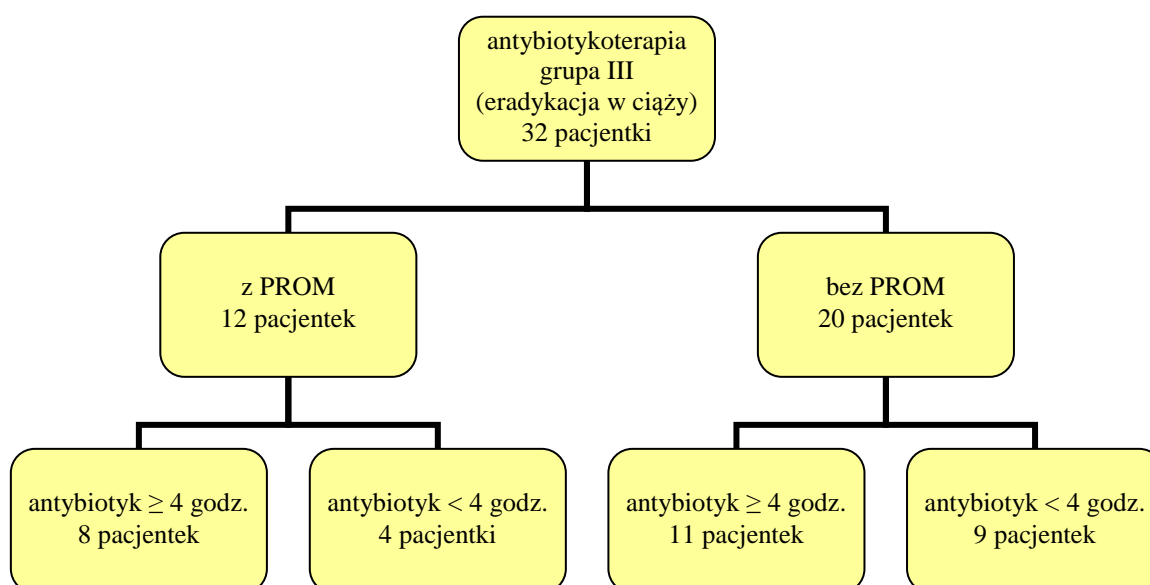
Powyższe dane zestawione są na rycinach 7, 8 i 9.



Rycina 7. Zastosowanie antybiotykoterapii u pacjentek w grupie I.



Rycina 8. Zastosowanie antybiotykoterapii u pacjentek w grupie II.



Rycina 9. Zastosowanie antybiotykoterapii u pacjentek w grupie III.

Spośród 418 noworodków objętych badaniem 24,88% (n = 104) wykazywało cechy infekcji i wymagało leczenia antybiotykami. Na podstawie badania przedmiotowego, wyników badań dodatkowych oraz objawów klinicznych stwierdzono zapalenie płuc u 41

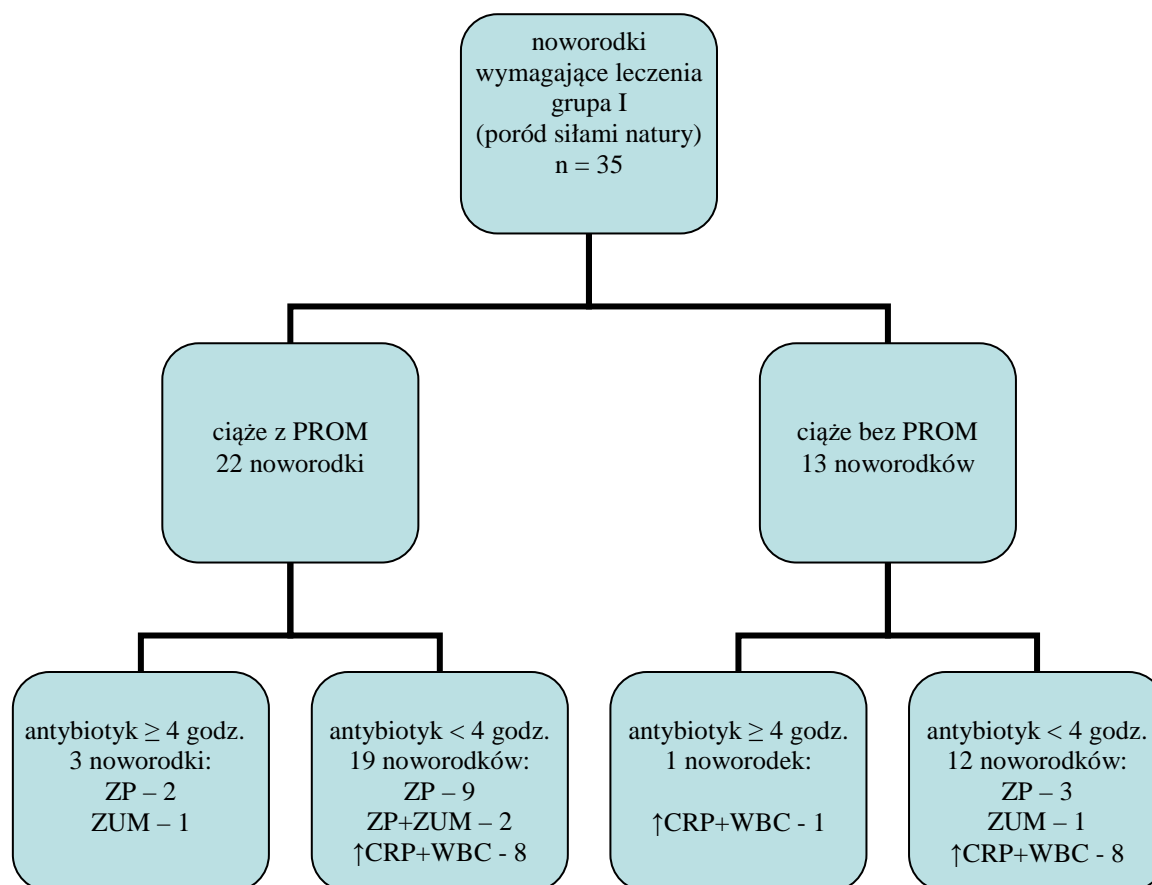
noworodków (39,42%), zakażenia układu moczowego (ZUM) u 12 noworodków (11,54%), współwystępowanie zapalenia płuc i ZUM u 11 noworodków (10,58%), posocznicę u 2 noworodków (1,92%) oraz infekcje o nieustalonym punkcie wyjścia u 38 noworodków (36,54%). Za infekcje o nieustalonym punkcie wyjścia przyjęto takie, w których wykładniki stanu zapalnego (CRP i WBC) były podwyższone (CRP > 0,5 g/dl, WBC > 17 000 / mm³), natomiast wszystkie inne wyniki badań dodatkowych były w granicach normy. Wszystkie zakażenia stwierdzone u noworodków miały charakter EOD, czyli infekcji o wczesnym początku ujawniających się do 7. doby życia dziecka (tabela 2).

Tabela 2. Rodzaj i ilość zakażeń wśród noworodków matek GBS dodatnich.

Rodzaj infekcji	Noworodki z infekcją	
	Liczba (n)	Odsetek (%)
Zapalenie płuc	41	39,42
ZUM	12	11,54
Zapalenie płuc + ZUM	11	10,58
Posocznica	2	1,92
Infekcje o nieustalonym punkcie wyjścia	38	36,54
Razem	104	100

Wśród noworodków kobiet rodzących siłami natury (grupa I) 35 dzieci (23,33%) wykazywało cechy infekcji i wymagało leczenia. 22 z nich pochodziło z ciąż z PROM, z czego u 19 matek tych dzieci antybiotykoterapia stosowana była < 4 godzin. W tej podgrupie znalazły się również 3 noworodki od matek z PROM, u których antybiotyk podawany był ≥ 4 godzin. Pozostałych 13 noworodków wykazujących cechy infekcji

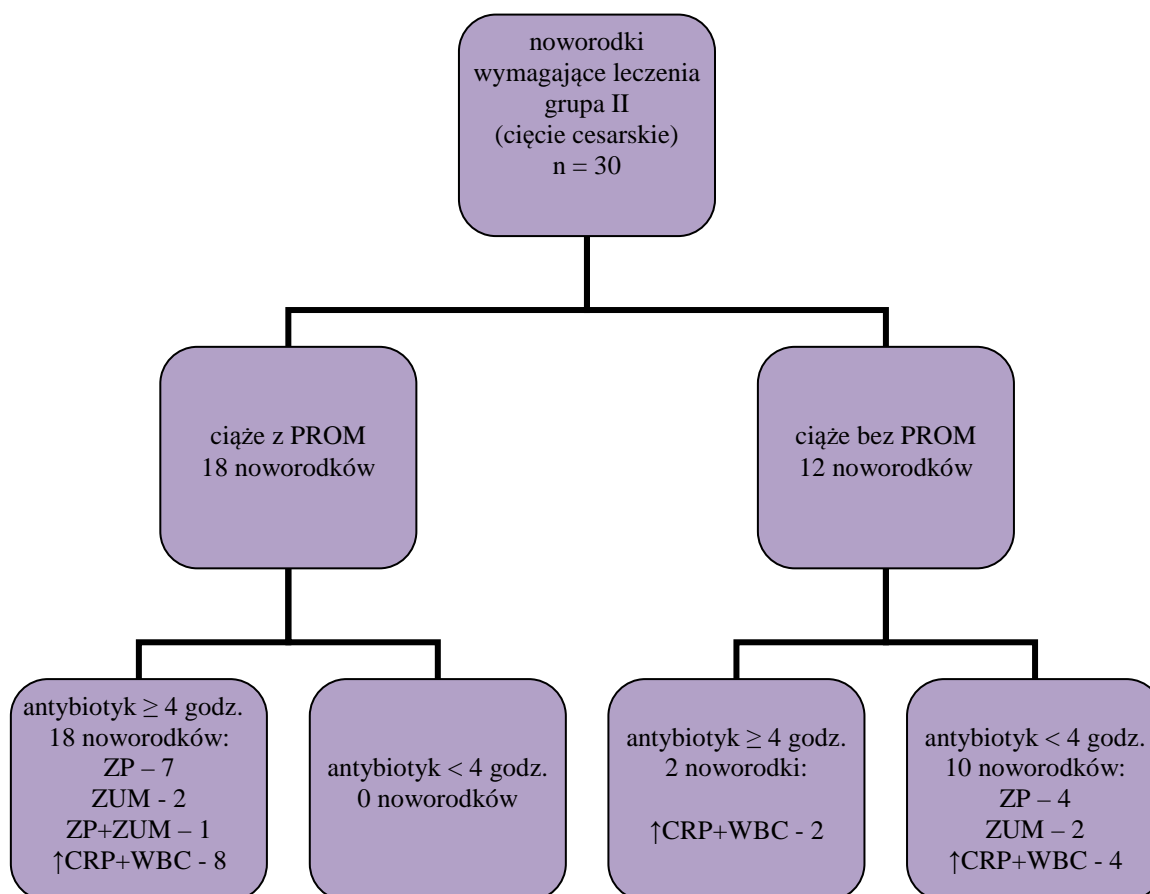
pochodziło z ciąż bez PROM, a 12 z nich miało zastosowaną antybiotykoterapię okołoporodową krócej niż 4 godziny. W grupie I 14 dzieci miało zapalenie płuc, 2 ZUM, 2 zapalenie płuc i ZUM, a 17 infekcje o trudnym do ustalenia punkcie wyjścia (rycina 10).



Rycina 10. Ilość i rodzaj infekcji u noworodków matek GBS dodatnich rodzących siłami natury.

30 dzieci kobiet z grupy II (20%), u których wykonano cięcie cesarskie, miało cechy infekcji i wymagało dalszego leczenia. W 11 przypadkach było to zapalenie płuc, w 4 ZUM, a w 14 infekcja o nieustalonym punkcie wyjścia. U 1 noworodka współwystępowało zapalenie płuc i ZUM. 18 dzieci pochodziło z ciąż z PROM, a antybiotykoterapia

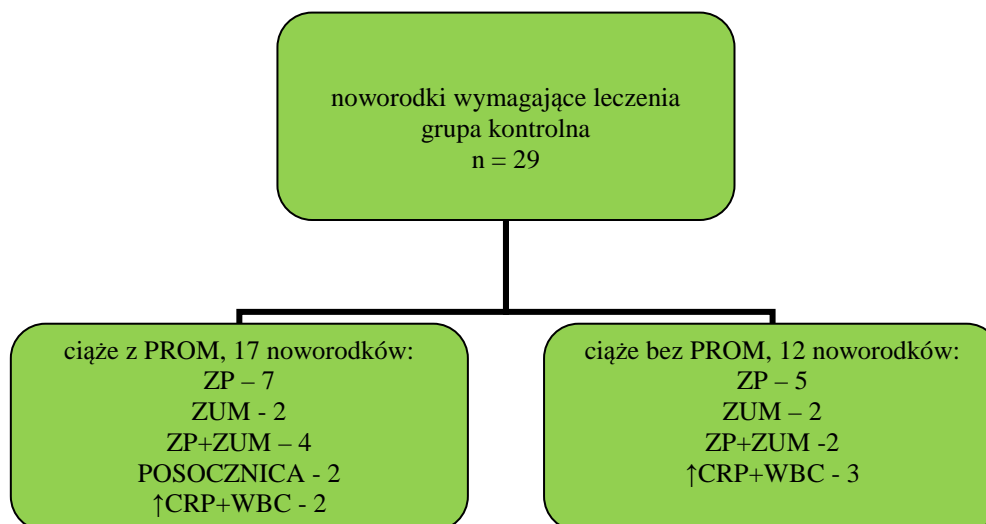
stosowana była ≥ 4 godzin. Pozostałych 12 noworodków to dzieci matek, u których nie występował PROM, a u 10 antybiotyk podawany był < 4 godzin (rycina 11).



Rycina 11. Ilość i rodzaj infekcji u noworodków matek GBS dodatnich rodzących cięciem cesarskim.

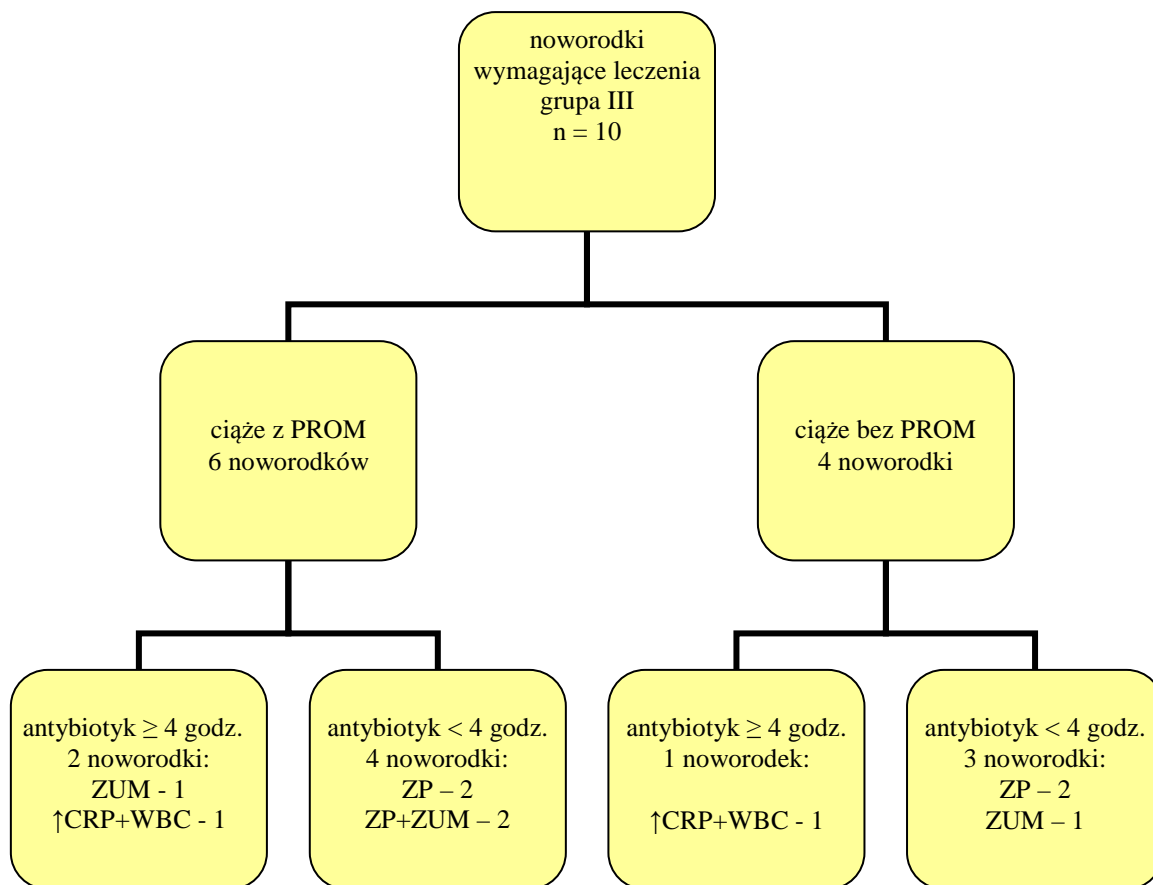
W grupie kontrolnej największy odsetek noworodków wymagał leczenia antybiotykami ze względu na występowanie u nich zakażenia (33,72%, n = 29). Wśród tych infekcji znajdowały się również te o najgorszym przebiegu. Były to 2 przypadki posocznicy u dzieci matek z PROM. Spośród 18 przypadków zapaleń płuc, w tym 4, z którymi współwystępowało zakażenie dróg moczowych, 8 miało szczególnie ciężki przebieg i wymagało długiego leczenia. U matek tych 8 dzieci także występował PROM. Ponadto u 4

noworodków stwierdzono zakażenie układu moczowego (2 z ciąż z PROM), a u 5 infekcję o trudnym do ustalenia punkcie wyjścia (2 z ciąż z PROM) (rycina 12).



Rycina 12. Ilość i rodzaj infekcji u noworodków matek GBS dodatnich z grupy kontrolnej.

W najmniej licznej grupie III (n = 32), w której kobiety otrzymały antybiotyk w celu eradykacji GBS już w trakcie ciąży, a następnie standardową profilaktykę okołoporodową, aż 10 noworodków (31,25%) wykazywało wykładniki infekcji i wymagało leczenia. Było to 6 dzieci z ciąż z PROM, których 2 matki otrzymywały antybiotyk ≥ 4 godzin, a 4 matki < 4 godzin oraz 4 dzieci z ciąż bez PROM, gdzie w 3 przypadkach profilaktyka okołoporodowa stosowana była < 4 godzin, a w 1 ≥ 4 godzin. W tej grupie noworodków najczęstszym (n = 4) powikłaniem było zapalenie płuc (w tym 2 o ciężkim przebiegu), natomiast zakażenie układu moczowego, współistnienie zapalenia płuc i zakażenia układu moczowego oraz infekcje o nieustalonym punkcie wyjścia występowały z taką samą częstotliwością, po 2 każde (rycina 13).



Rycina 13. Ilość i rodzaj infekcji u noworodków matek GBS dodatnich, u których w ciąży zastosowano antybiotykoterapię celem eradykacji paciorkowca.

Rodzaj i ilość poszczególnych infekcji u noworodków w każdej z grup przedstawia tabela 3.

Tabela 3. Rodzaje i liczba infekcji u noworodków matek GBS dodatnich z poszczególnych grup.

RODZAJ INFEKCJI	GRUPA			
	I	II	III	Kontrolna
ZP	14	11	4	12
ZUM	2	4	2	4
ZP+ZUM	2	1	2	6
POSOCZNICA	0	0	0	2
↑CRP+WBC	17	14	2	5
RAZEM	35	30	10	29

Zbadano występowanie istotności statystycznej w różnicach pomiędzy odsetkiem zakażonych noworodków w każdej grupie.

Tabela 4. Odsetek noworodków zakażonych w każdej grupie.

	GRUPA			
	I	II	III	Kontrolna
Liczba wszystkich noworodków w grupie	150	150	32	86
Odsetek noworodków z infekcją (%)	23,33	20	31,25	33,72

Stwierdzono istotną statystycznie różnicę w odsetku noworodków z infekcją pomiędzy grupami I i III, I i grupą kontrolną, II i III, II i grupą kontrolną ($p < 0,05$), brak natomiast istotnej statystycznie różnicy pomiędzy grupami I i II oraz III i grupą kontrolną ($p > 0,05$).

Zbadano występowanie istotnej statystycznie różnicy pomiędzy odsetkiem zakażeń u dzieci z ciąż z PROM i bez PROM, których matki otrzymywały antybiotykoterapię okołoporodową bez wcześniejszej eradykacji (grupy I i II).

Tabela 5. Odsetek noworodków wymagających leczenia z ciąż z PROM oraz bez PROM z grup I i II.

	Ciąże z grup I i II	
	z PROM	bez PROM
Liczba noworodków w podgrupie (n)	63	237
Odsetek noworodków z infekcją (%)	63,49	10,55

Stwierdzono występowanie istotnej statystycznej różnicy w odsetku dzieci zakażonych z ciąż z PROM i bez PROM (63,49% vs. 10,55%, $p < 0,05$).

Zbadano występowanie istotnej statystycznie różnicy pomiędzy odsetkiem noworodków wymagających leczenia w zależności od długości stosowania antybiotykoterapii okołoporodowej w ciążach z grup I i II.

Tabela 6. Odsetek noworodków wymagających leczenia w przypadku stosowania antybiotykoterapii okołoporodowej ≥ 4 godzin i < 4 godzin.

	Cięższe z grup I i II	
	antybiotyk ≥ 4 godzin	antybiotyk < 4 godzin
Liczba noworodków w podgrupie (n)	165	135
Odsetek noworodków z infekcją (%)	14,54	30,37

Stwierdzono występowanie istotnej statystycznie różnicy w odsetku noworodków wymagających leczenia w przypadku stosowania antybiotykoterapii okołoporodowej ≥ 4 godzin i < 4 godzin (14,54% vs. 30,37%, $p < 0,05$).

5. Dyskusja

Paciorkowce grupy B są bakteriami komensalnymi, które powszechnie bytują w przewodzie pokarmowym i układzie moczowo-płciowym człowieka i dla dorosłego osobnika, bez niedoborów w układzie odpornościowym nie stanowią żadnego zagrożenia. Problem pojawia się, gdy nosicielką GBS jest kobieta ciężarna, wówczas kolonizacja ta stanowi istotny czynnik ryzyka okołoporodowego zakażenia noworodków, w tym bardzo groźnej sepsy i zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych [37]. Zarówno wczesne, jak i późne postaci zakażenia (EOD i LOD) mogą być niebezpieczne w skutkach, szczególnie jeśli są zdiagnozowane zbyt późno lub co gorsza, nie rozpoznane w ogóle.

Badania na temat patogenezы zakażeń okołoporodowych wywołanych przez *Streptococcus agalactiae*, mechanizmów ich powstawania, objawów i wreszcie na temat wrażliwości GBS na antybiotyki i stosowania profilaktyki okołoporodowej miały swój początek w Stanach Zjednoczonych.

W latach 70. XX w. Larsen i wsp. wykorzystali model małpy rhesus w celu zbadania biologii okołoporodowego zakażenia GBS [38]. Wszczepienie domózgowe bakterii GBS typu 1c oraz III okazało się być jednakowo śmiertelne, natomiast dożylnie lub doowodniowe podanie GBS tuż przed porodem skutkowało zapaleniem płuc lub opon mózgowo-rdzeniowych noworodków, ale o różnej śmiertelności [39]. Badania mające na celu ocenę skuteczności antybiotykoterapii w tych warunkach wykazały znaczący jej efekt ochronny, nawet w przypadku infekcji mózgowej.

W roku 1979 Yow i wsp. wykazali skuteczność pojedynczej dawki ampicyliny w zapobieganiu okołoporodowej transmisji GBS od skolonizowanych matek do ich dzieci [40]. W badaniu tym żadna z 34 kobiet skolonizowanych tą bakterią, która otrzymała penicylinę w trakcie porodu, nie urodziła zakażonego noworodka. Dla porównania 58%

noworodków, które urodziły się w grupie nie poddanej antybiotykoterapii, było skolonizowanych.

Dalsze badania kliniczne potwierdziły skuteczność antybiotykoterapii okołoporodowej w znacznym zapobieganiu sepsy o wczesnym początku (EOS) wywołanej przez GBS u noworodków [41, 42, 43, 44]. W badaniach tych leczenie skolonizowanych kobiet ampicyliną lub penicyliną w trakcie porodu znacznie zmniejszyło ilość incydentów EOS z powodu GBS, ze skutecznością określaną na 25 - 100%. W jednym z badań Boyer i Gotoff zaobserwowali, że skolonizowane kobiety w 26 – 28 tygodniu ciąży, które otrzymywały dożylną antybiotykoterapię śródporodową (i które prezentowały inne czynniki ryzyka tj. poród przedwczesny, przedłużający się okres od pęknięcia błon płodowych, gorączka), miały zmniejszony odsetek kolonizacji przekazywanej wertykalnie z 51% do 9% i spadek ilości EOS u ich dzieci z 6% do 0% [41].

W roku 1992 Amerykańska Akademia Pediatrii (AAP) wydała rekomendacje odnośnie profilaktyki antybiotykowej u matek skolonizowanych GBS w celu zmniejszenia incydentów zakażeń wśród noworodków [45]. We wczesnym wieloośrodkowym badaniu obserwacyjnym poczynionym po wydaniu tych początkowych rekomendacji, Zalesnik i wsp. prześledzili dane kobiet ciężarnych i noworodków z Seattle, Minneapolis, Pittsburgh'a i Houston w okresie od 1993 do 1996 roku [46]. Współczynnik zapadalności na EOS z powodu GBS we wszystkich częściach tego badania był niższy (0,8/1000 żywych urodzeń) niż oczekiwany współczynnik 2/1000 żywych urodzeń, oparty na wcześniejszych badaniach obserwacyjnych. Jednakże współczynnik zapadalności różnił się w zależności od regionu osiągając wartości najwyższe w Houston (1,3/1000 żywych urodzeń) do najniższych w Minneapolis (0,6/1000 żywych urodzeń). Współczynniki były najwyższe dla Afro-Amerykanek oraz Hiszpanek. Niska masa urodzeniowa (LBW) < 2500 g była istotnym czynnikiem ryzyka wysokiej zapadalności na EOS (2,1/1000 vs. 0,7/1000

dla dzieci z masą ciała ≥ 2500 g). Jednakże większość przypadków zachorowalności (75%) dotyczyła dzieci donoszonych lub prawie donoszonych.

Rekomendacje AAP z 1992 roku zyskały niepełną akceptację. W roku 1996 Centrum Kontroli i Zapobiegania Chorobom (CDC) wydało oświadczenie w porozumieniu z Amerykańskim Towarzystwem Położników i Ginekologów (ACOG) oraz AAP [17, 47, 48]. W deklaracji tej zostały zawarte strategie postępowania, które były ogólnie akceptowalne. Był to skrining kobiet ciężarnych w kierunku nosicielstwa GBS pomiędzy 35 a 37 tygodniem ciąży lub działania oparte na czynnikach ryzyka, tj. gorączka > 38 °C, PROM ≥ 18 godzin, wiek ciążowy < 37 Hbd, potwierdzona kolonizacja GBS. Badania obserwacyjne wykazały jednak, że prawie 50% infekcji u noworodków wywołanych przez GBS nie było wykrytych przy stosowaniu tylko i wyłącznie podejścia opartego na czynnikach ryzyka [49].

Wieloośrodkowa analiza danych obserwacyjnych z lat 1993 – 1998 wykazała uderzający spadek (o 65%) w zapadalności na EOS GBS, potwierdzając skuteczność skriningu popartego leczeniem matek skolonizowanych GBS [50]. Ogólny efekt protekcyjny profilaktyki GBS został także potwierdzony przez CDC w ich raporcie na temat narodowych danych obserwacyjnych odnośnie zachorowań związanych z GBS na bazie 12,5 mln osób w podobnym okresie czasu.

Duże retrospektywne badanie kohortowe, oparte na 600 000 osób, prowadzone przez grupę z CDC zajmującą się zakażeniami bakteryjnymi (Active Bacterial Core Surveillance Team) wykazało dużo większą skuteczność powszechnego skriningu wśród kobiet ciężarnych aniżeli postępowania opartego na stwierdzeniu czynników ryzyka. Na podstawie tych i wielu innych wyników, CDC ponownie opracowało i uaktualniło w roku 2002 rekomendacje zatwierdzone przez AAP i ACOG, w których poleca szczególnie promować skrining w kierunku GBS u kobiet między 35 a 37 tygodniem ciąży oraz

antybiotykową profilaktykę okołoporodową (IAP) u kobiet skolonizowanych [18,51]. Aby pomóc zawęzić stosowanie antybiotyków okołoporodowo, wytyczne nie zalecały podawania profilaktyki przeciwko GBS u kobiet, które w ciągu 5 tygodni przed porodem miały negatywny posiew w kierunku GBS, mimo, że stwierdzano u nich czynniki ryzyka. Chcąc wzmocnić czułość wykonywanych posiewów z pochwy i okolicy odbytu, CDC w swoich rekomendacjach podało dokładne wytyczne co do sposobu pobierania i postępowania z wymazami. Ponadto w opracowaniu znalazły się algorytmy odnośnie profilaktyki w przypadku zagrażającego porodu przedwczesnego oraz zasady postępowania z noworodkami narażonymi na GBS, u których stosowana była profilaktyka okołoporodowa. To zmienione podejście pozwoliło po raz kolejny obniżyć zapadalność na EOS związaną z GBS do częstości 0,3/1000 żywo urodzonych donoszonych noworodków [52, 53].

Mimo, że początkowy spadek w zapadalności na infekcje z powodu GBS odzwierciedlał spadek EOS wśród noworodków matek afro - amerykańskich, analiza ostatnich danych wykazała kilkanaście razy wyższy wskaźnik zachorowań wśród noworodków afro-amerykańskich niż wśród białych dzieci [52, 54, 55, 56].

Pomimo znacznego spadku zachorowalności na EOS GBS po wprowadzeniu w życie rekomendacji począwszy od roku 1996, spora liczba noworodków rocznie zapada na choroby zależne od GBS, szczególnie te o bardzo niskiej masie urodzeniowej (VLBW) [57, 58]. Niepokojące są dane, że wiele z tych noworodków rozwinęło infekcje wobec braku wykładników kolonizacji ciężarnych. Potencjalnym wytłumaczeniem dla tego rodzaju sytuacji może być nabycie infekcji GBS już po wykonanym posiewie, nieudokumentowana antybiotykoterapia ambulatoryjna lub niejednolite techniki pobierania i postępowania z posiewem [59]. Wyniki fałszywie negatywne obserwuje się w 4 – 8% przypadków [60].

Puopolo i wsp. dokonali analizy danych z lat 1997 – 2003, które obejmowały zmiany w podejściu do profilaktyki okołoporodowej w kierunku GBS w oparciu o protokół obejmujący skrining [60]. W badaniu tym współczynnik zapadalności na choroby zależne od GBS wyniósł 0,37/1000, spadek w tym współczynniku odzwierciedlał wyniki z innych instytucji. Prawie 2/3 matek zainfekowanych noworodków (82% ciąż donoszonych) miało negatywny wynik skriningu w kierunku GBS. 19 z 25 GBS-negatywnych matek zarażonych noworodków prezentowało przynajmniej 1 śródporodowy czynnik ryzyka, a tylko mała część z nich (< 20%) otrzymała profilaktykę okołoporodową, a w 1 przypadku antybiotykoterapia stosowana była > 4 godzin. 12 z 17 zainfekowanych donoszonych noworodków nie miało żadnych lub miało łagodne objawy zakażenia. Dzieci leczone empirycznie na podstawie wystąpienia czynników ryzyka z następowym dodatnim posiewem z krwi, pozostały stabilne klinicznie. Dla kontrastu 7 z 8 wcześniaków z infekcją GBS prezentowało kliniczne objawy posocznicy. Dane te wskazują na ewidentnie protekcyjne działanie wczesnej empirycznej antybiotykoterapii u noworodków z ryzykiem rozwinięcia EOS i podkreślają istotę oceny nawet dobrze wyglądających noworodków na możliwość wystąpienia sepsy, w przypadku obecności jakiegokolwiek czynnika ryzyka u matki, mimo ujemnego wyniku posiewu w kierunku GBS. Autorzy podkreślają, że stosunkowo wysoki odsetek wyników fałszywie negatywnych w przypadku posiewów wskazuje na potrzebę szybkiej oceny i wychwycenia porodów o wysokim ryzyku infekcji u noworodków.

Zwiększenie częstości stosowania antybiotykoterapii okołoporodowej spowodowało wzrost oporności bakterii GBS na klindamycynę i erytromycynę, antybiotyki najczęściej stosowane w przypadku uczulenia kobiety na penicyliny [61]. Takie wyniki uzyskali m.in. Bergsens i wsp., którzy dokonując analizy danych z krajowego systemu monitorującego zakażenia GBS w latach 1996-2006, stwierdzili istotny statystycznie wzrost oporności na

erytromycynę i klindamycynę w 2006 roku [62]. Z kolei Panda i wsp. oceniając w swoim ośrodku antybiotykowrażliwość *Streptococcus agalactiae* stwierdzili, że wszystkie wyizolowane szczepy GBS były wrażliwe na penicyliny, cefalosporyny i wankomycynę, natomiast aż 32% wykazywało oporność na azytromycynę, 25% na erytromycynę i 21% na klindamycynę [63]. W związku z powyższym zgodnie z zaleceniami CDC istnieje konieczność oznaczania antybiogramu u kobiet ze zwiększonym prawdopodobieństwem uczulenia na penicyliny [18].

Coraz częstsze stosowanie penicylin i ich pochodnych w profilaktyce jest przyczyną jeszcze jednego problemu pojawiającego się głównie u dzieci niedonoszonych z bardzo niską masą urodzeniową [58]. Są to częściej pojawiające się infekcje, do posocznicy włącznie, spowodowane przez oporne na penicyliny bakterie *Escherichia coli*, które są głównym patogenem wśród wcześniaków. To spowodowało, że w ostatnich latach wzrosła nie tylko zachorowalność, ale także śmiertelność wywołana opornymi na penicyliny pałeczkami *Escherichia coli* [64, 65, 66, 67].

W Polsce rekomendacje odnośnie prowadzenia skriningu wśród ciężarnych pomiędzy 35 a 37 tygodniem ciąży oraz stosowania profilaktyki okołoporodowej u matek GBS-pozytywnych pojawiły się w roku 2008 i były odzwierciedleniem na prowadzone w kilku polskich ośrodkach badania odnośnie nosicielstwa GBS wśród ciężarnych i wystąpienia u ich dzieci infekcji zależnych od GBS [7, 8, 9]. Rekomendacje te, przedstawione we wstępie niniejszej pracy, oparte zostały na zaleceniach światowych i powinny być stosowane przez wszystkich lekarzy ginekologów-położników sprawujących opiekę nad kobietami ciężarnymi [1, 2].

Wyniki mojej pracy badawczej miały na celu przedstawienie skuteczności stosowania zalecanej profilaktyki w zależności od czasu jej włączenia, rodzaju porodu, wystąpienia lub nie PROM, a także wykazanie skutków nie wykonywania posiewów w kierunku GBS,

nie włączenia profilaktyki oraz stosowania błędnie profilaktyki przedporodowej celem eradykacji GBS.

Dane uzyskane z moich badań są zgodne z tymi przedstawianymi przez innych autorów i jednoznacznie wskazują na zmniejszenie ilości powikłań związanych z infekcjami GBS wśród noworodków matek GBS-dodatnich w przypadku stosowania antybiotykoterapii okołoporodowej. W sytuacji braku profilaktyki odsetek noworodków demonstrujących objawy infekcji i wymagających leczenia był zdecydowanie i istotnie statystycznie większy od odsetka dzieci zainfekowanych przy zastosowaniu antybiotykoterapii okołoporodowej (33,72 vs. 21,66; $p < 0,05$). Ponadto wśród zakażonych noworodków, nieotrzymujących profilaktyki okołoporodowej znalazły się 2 najcięższe przypadki posocznicy.

Istotnym elementem okazuje się być czas stosowania profilaktyki, który jest najkorzystniejszy w wymiarze co najmniej 4 godzin, wówczas istnieje istotna statystycznie różnica w odsetku noworodków wymagających leczenia po porodzie (14,54% vs. 30,37%; $p < 0,05$).

Duże znaczenie ma również występowanie lub nie PROM, gdzie włączenie antybiotyku w przypadku nosicielstwa GBS powinno się odbyć w jak najkrótszym czasie od momentu pęknięcia błon. Różnica w odsetku dzieci wymagających leczenia po porodzie w przypadku występowania lub nie PROM była w moich badaniach istotna statystycznie ($p < 0,05$), a wartości te wynosiły odpowiednio 63,49% vs. 10,55% .

Po przeanalizowaniu wyników okazało się natomiast, że nie ma istotnego statystycznie znaczenia sposób ukończenia ciąży (drogami natury, czy cięciem cesarskim). Podobny odsetek noworodków matek GBS-dodatnich z obydwu grup wymagał leczenia po porodzie (23,33% vs. 20%; $p > 0,05$). Najprawdopodobniej ma to związek z patogenezą wewnątrzmacicznego zakażenia noworodków. Najbardziej prawdopodobnym

mechanizmem, oprócz zaaspirowania bakterii bezpośrednio z wydzieliną podczas porodu, jest przedostawanie się czynników stanu zapalnego, tj. Il-6, Il-8 przez zachowane nawet błony płodowe do płynu owodniowego, a następnie do płuc płodu [68]. Podobne wyniki uzyskali Kraśnianin i wsp. [69], którzy stwierdzili, że ani wykonane cięcie cesarskie, ani zachowane błony płodowe nie chronią noworodka przed infekcją GBS.

Bardzo interesujące i istotne z punktu widzenia klinicznego wyniki uzyskałem w przypadku grupy kobiet GBS - dodatnich, u których błędnie wcześniej ambulatoryjnie zastosowana została antybiotykoterapia celem eradykacji GBS, a następnie standardowo, zgodnie z zaleceniami PTG, włączono profilaktykę okołoporodową. Niestety popełnienie błędu przez lekarzy prowadzących ciążę w postaci przedporodowej próby eradykacji GBS spowodowało, że wynik w tej sytuacji niewiele się różnił od tego uzyskanego w przypadku ciężarnych, u których w ogóle nie została zastosowana profilaktyka (odpowiednio 31,25% vs. 33,72%; $p > 0,05$). Jest to bardzo istotna informacja przestrzegająca przed popełnianiem tego rodzaju błędów i skłaniająca do wnikliwej analizy i stosowania się do rekomendacji PTG. Jedynym pozytywnym aspektem tej sytuacji jest fakt, że grupa tych ciężarnych była najmniej liczna, co świadczy o popełnianiu tego rodzaju błędów przez niewielu lekarzy.

Kociszewska-Najman i wsp. [70] oceniając śródporodową profilaktykę zakażeń GBS na doświadczeniach własnych stwierdzili, że „wprowadzenie standardów polegających na wykonywaniu wymazów z odbytu i przedsionka pochwy na podłoża w kierunku wykrycia nosicielstwa GBS u każdej kobiety przed porodem oraz stosowanie właściwej profilaktyki okołoporodowej, wpłynęło znacząco na poprawę diagnostyki i leczenia noworodków. Pozwoliło to na znacznie szybszą identyfikację noworodków zagrożonych zakażeniem okołoporodowym, a w przypadku potwierdzenia infekcji na stosowne leczenie, co zmniejszyło częstość okołoporodowych zakażeń GBS u noworodków”.

Velaphi i wsp. po 5-letniej obserwacji stwierdzili, że prawidłowe prowadzenie profilaktyki okołoporodowej, zgodnej z przyjętymi zaleceniami CDC, istotnie zmniejsza odsetek wczesnych zakażeń GBS u noworodków o 76% [71].

Według raportu CDC z roku 2007, po wprowadzeniu zaleceń odnośnie profilaktyki zakażeń GBS, wskaźnik EOD GBS u noworodków był o 33% niższy w latach 2003-2005 w porównaniu z latami 2000-2001, jednakże prawidłowe prowadzenie profilaktyki nie znalazło odzwierciedlenia w spadku częstości LOD GBS (noworodki i niemowlęta pomiędzy 7. a 89. dobą życia). Wartości odnośnie tych infekcji pozostały bez zmian [60, 72]. Z kolei w badaniu kohortowym prowadzonym w stanie Tennessee w USA w latach 2003-2004, również stwierdzono stosunkowo niski wskaźnik występowania EOD (0,36/1000 żywych urodzeń, z czego tylko 25% otrzymało IAP). Jednakże wysunięto tutaj bardzo ważny wniosek, którego potwierdzeniem mogą być wyniki uzyskane w niniejszej pracy, że nie wszystkie kobiety mogą otrzymać optymalną antybiotykoterapię trwającą dłużej niż 4 godziny, w związku z czym wyeliminowanie wczesnych zakażeń będzie bardzo trudne [73].

Podczas gdy powszechny skrining znacząco pozytywnie wpłynął na zmniejszenie zachorowalności z powodu GBS, postępowanie takie nie jest niezawodne i choroby o wczesnym początku wywołane przez GBS są znaczącym problemem zdrowia publicznego. Ponadto istnieją dowody powstawania szczepów opornych na stosowaną okołoporodową profilaktykę antybiotykową. Coraz większa liczba naukowców staje się zwolennikami alternatywnego postępowania, aby zminimalizować potrzebę profilaktyki przedporodowej i towarzyszące jej ryzyko. Takie też są wnioski przeglądu bazy danych Cochrane z 2009 roku. Ohlsson i wsp. twierdzą, że skuteczność profilaktyki antybiotykowej nie jest poparta żadnymi wiarygodnymi dowodami naukowymi i że konieczne jest właściwe zaplanowanie badania z podwójnie ślepą próbą. Ponadto zauważają oni, że szerokie stosowanie

antybiotyków daje efekty uboczne w postaci reakcji alergicznych u rodzających, ale przede wszystkim w postaci zwiększania się lekooporność bakterii GBS oraz ekspozycji noworodków na te szczepy [31].

Złożone postępowanie mające na celu wprowadzenie badań przesiewowych i/lub profilaktyki u matek i ich dzieci zostało bardzo pozytywnie ocenione i znalazło swoje odzwierciedlenie m.in. w obszernym badaniu przeprowadzonym we Włoszech, gdzie skolonizowane noworodki były leczone amoksycyliną, co dało rezultat w postaci zmniejszenia zarówno epizodów EOD, jak i LOD wywołanych przez GBS (z 0,74/1000 do 0,048/1000 przypadków pod koniec badania). Jednakże konieczne są dalsze badania mające określić koszt celowego postępowania, jak i niezamierzonych konsekwencji, szczególnie w odniesieniu do powstającej wśród bakterii oporności. Dla przykładu, doustna profilaktyka amoksycyliną z kwasem klawulanowym z powodu PROM, czy też porodu przedwczesnego związana była ze zwiększonym ryzykiem martwiczego zapalenia jelit [74].

Podawanie szczepionek, jako profilaktyki wydaje się być najbardziej obiecującym postępowaniem w zapobieganiu chorobom wywoływanym przez GBS u noworodków [75]. Najbardziej racjonalnym powodem, dla którego należałoby szczepić kobiety przeciwko GBS jest fakt, że większość (85 – 90%) kobiet ciężarnych nie ma przeciwciał przeciwko GBS w okresie porodu [76]. Po przeprowadzonej analizie stwierdzono, że połączenie szczepień oraz skriningu powinno zapobiegać 66% okołoporodowych infekcji spowodowanym przez GBS oraz 1 na 25 porodów przedwczesnych [77]. Szczepionki oparte na ekspresji polisacharydowej otoczki bakteryjnej (CPS), połączone z toksyną tężcową wykazały szczególny potencjał terapeutyczny [76, 78, 79, 80, 81, 82, 83]. W pierwszych badaniach odpowiedź immunologiczna matek na szczepienia była obiecująca, choć w badaniach Bakera i wsp. 75% noworodków urodzonych przez kobiety, które

odpowiedziały na szczepienia z typem III otoczki polisacharydowej, miały przeciwciała na poziomie dającym odporność tylko dwa miesiące po porodzie [80, 84].

Połączenie szczepionki opartej na otoczce polisacharydowej z toksoidem tężca udoskonało odpowiedź immunologiczną u odbiorców. Wysoki odsetek (93-100%) zimmunizowanych w ten sposób kobiet prezentował czterokrotny wzrost specyficznych przeciwciał, jednakże proporcja ta była nieco mniejsza (80%) u pacjentów otrzymujących szczepionkę z typem 1b otoczki [85]. Co istotne, poziom przeciwciał u kobiet był wykrywalny jeszcze dwa lata po immunizacji. Mimo, iż znaczące dane wskazywały na to, że szczepionki są obiecującą bronią w walce z chorobami wywoływanymi przez GBS, firmy farmaceutyczne pozostały w tej kwestii niezdecydowane [86]. Cel w postaci uzyskania uniwersalnej efektywnej szczepionki i dzięki temu sukces immunizacji wydaje się być nieosiągalny. Wynalezienie szczepionki o globalnym zastosowaniu jest utrudnione ze względu na zmienność serotypową GBS oraz różne wzorce antygenowe tej bakterii na przestrzeni czasu, a także w różnych populacjach ludzkich [87, 88, 89].

Konwencjonalne postępowanie w celu wynalezienia szczepionek zostało wzbogacone o nowe technologie: genomikę i proteomikę oraz jest szybko rozszerzane o techniki takie jak odwrotna wakcynologia, w których specyficzne dla danego patogenu sekwencje genomowe są używane w celu wytworzenia szczepionki [89, 90, 91].

Rozważano alternatywne postępowania co do eradykacji kolonizacji GBS włącznie z wynalezieniem miejscowych środków, które niszczyłyby paciorkowca. W swoim badaniu Stade i wsp. wykorzystali chlorhexydynę jako środek dezynfekujący pochwę. Wydawała się ona być korzystna ze względu na niski koszt i brak wpływu na rozwinięcie lekooporność u bakterii. O ile badania wykazały jej korzystny wpływ na zmniejszenie kolonizacji GBS wśród noworodków, to niestety nie wiązało się to jednocześnie ze zmniejszeniem ilości chorób o wczesnym początku wywołanym przez GBS [92]. Inną

substancją, która okazała się mieć działanie bakteriobójcze na GBS była allicyna otrzymywana z czosnku [93]. Kolejne rozwiązanie dotyczyło lizyn bakteriofagów, które są hydrolazami ściany komórkowej i czynią bakterie podatnymi na rozpad [94]. Badania „*in vivo*” na noworodkach mysich wykazały potencjał i szerokie spektrum działania lizyny PlyGBS przeciwko kolonizacji GBS. Ciekawe możliwości takiego postępowania to potencjalna korzyść w przypadkach oporności na antybiotyki, szybkość działania i widoczny brak toksyczności.

Postępowanie w postaci użycia szybkiego testu diagnostycznego mogłoby pomóc wdrożyć leczenie krótko przed porodem, szczególnie w przypadkach, gdzie brak wyniku posiewu w kierunku GBS lub gdy posiew jest ujemny, ale występują czynniki ryzyka. Jeden z takich testów zawiera szybką analizę PCR, która okazała się mieć taką samą lub większą czułość niż pobieranie posiewów [95] i jest wersją powszechną, która została zaakceptowana do tego celu [96]. Na Uniwersytecie Stanford analiza kosztów hipotetycznego badania kohortowego opartego na strategii PCR dała rezultaty w postaci korzyści związanych z mniejszym zużyciem antybiotyków u matek, mniejszą ilością infekcji GBS - zależnych u noworodków i mniejszą ilością zgonów i niepełnosprawności noworodków związanych z GBS w porównaniu z obecnym postępowaniem opartym na powszechnym skryningu [97]. Ponieważ najnowsze badania wymagają jeszcze wielu testów i udoskonaleń, zasadnym jest stosowanie dotychczas opracowanych zaleceń opartych na skryningu i profilaktyce okołoporodowej ze względu na udowodnioną wysoką ich skuteczność.

We wstępie niniejszej pracy przytoczyłem również wskazania dotyczące postępowania w przypadku podejrzenia i stwierdzenia zakażenia *Streptococcus pyogenes*. Bakteria ta coraz częściej pojawia się jako patogen wśród rodzących i może dawać bardzo groźne w skutkach powikłania. Jak twierdzą eksperci, w przyszłości może się okazać konieczne opracowanie szczegółowych zaleceń dotyczących profilaktyki i leczenia infekcji

wywołanych tą bakterią. Trudno jednoznacznie określić przyczynę, dla której zakażenia wywołane przez *Streptococcus pyogenes* występują coraz częściej. Być może związane jest to z naszymi działaniami i zasadą, że „natura nie lubi próżni”.

6. Wnioski

1. Stosowana zgodnie z zaleceniami antybiotykoterapia okołoporodowa zmniejsza, w porównaniu z grupą kontrolną, ryzyko zakażenia noworodków matek GBS (+).
2. Skuteczność profilaktyki okołoporodowej nie jest zależna od sposobu ukończenia ciąży.
3. Bardzo istotne znaczenie ma czas działania antybiotyku, który jest najkorzystniejszy w wymiarze co najmniej 4 godzin.
4. W przypadku stwierdzenia PROM konieczne jest jak najwcześniejsze włączenie antybiotykoterapii.
5. Przedporodowa eradykacja GBS zmniejsza skuteczność antybiotykoterapii okołoporodowej i zwiększa ryzyko infekcji u noworodków.

Streszczenie

Streptococcus agalactiae jest paciorkowcem beta-hemolizującym z grupy B (GBS – Group B *Streptococcus*), który może kolonizować dolny odcinek przewodu pokarmowego, odbyt, pochwę. Bakteria ta występuje u około 10 – 30% wszystkich kobiet i najczęściej nie daje żadnych objawów zakażenia. Grupą szczególnie narażoną na zwiększone namnażanie się GBS są kobiety ciężarne. Fakt ten ma istotne znaczenie ze względu na istniejące duże ryzyko kolonizacji bakterią noworodka (ok. 70%) i możliwość wystąpienia groźnych dla dziecka powikłań.

Infekcja GBS jest jedną z głównych przyczyn zapalenia opon mózgowo - rdzeniowych, zapalenia płuc u noworodków, posocznicy, zgonu noworodka, septycznego poronienia, zakażenia błon płodowych i ich przedwczesnego pęknięcia, zapalenia błony śluzowej macicy, odmiedniczkowego zapalenia nerek, zapalenia tkanki podskórnej, posocznicy połogowej i innych zakażeń okołoporodowych najczęściej pod postacią chorób układu oddechowego, zapalenia płuc i posocznicy.

Przed wprowadzeniem rutynowych badań przesiewowych w kierunku kolonizacji paciorkowcami grupy B kobiet ciężarnych, czyli przed 1990 rokiem, w USA co roku odnotowywano 7600 przypadków zakażeń noworodków, z czego 310 kończyło się zgonem. Dzięki wprowadzeniu standardów dotyczących wykrywania GBS u kobiet w ciąży, poprawie jakości rutynowej diagnostyki mikrobiologicznej, a także stosowaniu profilaktyki w postaci antybiotykoterapii okołoporodowej udało się zmniejszyć umieralność noworodków z 15–25% w latach 80. do 4–6% w latach 90.

W Polsce stwierdza się coraz większą liczbę kobiet skolonizowanych GBS, a także odnotowuje się rosnącą liczbę noworodków z obecną kolonizacją tym paciorkowcem.

Zastosowanie odpowiednich ujednoliconych procedur diagnostycznych (posiew z pochwy pomiędzy 35 – 37 tygodniem ciąży, odpowiednia hodowla i identyfikacja mikrobiologiczna) oraz antybiotykoterapii okołoporodowej może znacznie ograniczyć częstość zachorowań u dzieci i wystąpienia u nich groźnych dla życia powikłań.

Celem pracy była ocena skuteczności antybiotykoterapii okołoporodowej u matek GBS (+), w odniesieniu do noworodków, w zależności od sposobu ukończenia ciąży, długości stosowania i momentu włączenia leczenia, wystąpienia lub nie przedwczesnego pęknięcia błon płodowych (PROM) oraz ocena skutków ambulatoryjnej eradykacji *Streptococcus agalactiae* podczas ciąży.

Program badawczy miał charakter badań retrospektywnych. W badaniu wykorzystano dokumentację medyczną dotyczącą 418 pacjentek w ciążach pojedynczych, donoszonych, które rodziły w Oddziale Położniczo - Ginekologicznym Wojewódzkiego Szpitala Zespolonego im. L. Perzyny w Kaliszu w roku 2011, u których stwierdzono kolonizację pochwy paciorkowcem beta-hemolizującym i które w różnym stopniu były poddane antybiotykoterapii okołoporodowej (różnie długi okres podawania leku).

Antybiotykiem pierwszego rzutu w profilaktyce zakażeń GBS była ampicylina podawana dożylnie w dawce 2 g – pierwsza dawka, następnie 1 g co 4 godziny do momentu porodu, w przypadku uczulenia na penicyliny, podawana była wankomycyna dożylnie w dawce 1g co 12 godzin.

Na podstawie dokumentacji medycznej dokonano także analizy stanu pourodzeniowego 418 noworodków w/w pacjentek i wystąpienia u nich powikłań zależnych od kolonizacji paciorkowcem GBS. Porównano częstość wystąpienia powikłań w zależności od rodzaju porodu, długości antybiotykoterapii okołoporodowej, momentu jej włączenia i wystąpienia lub nie PROM.

Do przeprowadzenia analizy statystycznej wykorzystany został program CSS-STATISTICA v.6 oraz zastosowany był test niezależności χ^2 i test nieparametryczny Kruskala - Wallisa. Hipotezy statystyczne weryfikowane były na poziomie istotności $p < 0,05$.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (uchwała nr 965/11 z dnia 05.01.2012r.).

Średnia wieku kobiet wynosiła 27,9 lat (18 - 42 lata). Kobiety poddane profilaktyce okołoporodowej ($n = 150$), które rodziły siłami natury zaliczono do grupy I, 150 pacjentek, które otrzymało antybiotyki i u których wykonano cięcie cesarskie – do grupy II, a 32 pacjentki błędnie poddane już ambulatoryjnie antybiotykoterapii w celu eradykacji bakterii w czasie ciąży – do grupy III. Grupę kontrolną stanowiło kolejnych 86 kobiet, które z powodu zbyt krótkiego czasu od momentu przybycia do szpitala do porodu (przyjęte w II okresie porodu) lub ze względu na brak wyniku posiewu i brak wskazań w wywiadzie do stosowania profilaktyki okołoporodowej, nie zostały poddane antybiotykoterapii.

W grupie I PROM występował u 39 ciężarnych, w grupie II u 24 ciężarnych, w grupie III u 12 pacjentek, a w grupie kontrolnej u 27 kobiet.

Antybiotykoterapia okołoporodowa ≥ 4 godzin była zastosowana u 81 pacjentek rodzących siłami natury (w tym u 17 z PROM) oraz u 84 kobiet, u których ciążę rozwiązano cięciem cesarskim (w tym u 24 z PROM).

Spośród 32 pacjentek, u których błędnie podjęta była próba eradykacji GBS w ciąży, antybiotykoterapia okołoporodowa ≥ 4 godzin zastosowana była u 19 z nich (w tym u 8 z PROM).

Spośród 418 noworodków objętych badaniem 24,88% ($n = 104$) wykazywało cechy infekcji i wymagało leczenia antybiotykami. Na podstawie badania przedmiotowego,

wyników badań dodatkowych oraz objawów klinicznych stwierdzono zapalenie płuc u 41 noworodków (39,42%), zakażenia układu moczowego (ZUM) u 12 noworodków (11,54%), współwystępowanie zapalenia płuc i ZUM u 11 noworodków (10,58%), posocznicę u 2 noworodków (1,92%) oraz infekcje o nieustalonym punkcie wyjścia u 38 noworodków (36,54%). Za infekcje o nieustalonym punkcie wyjścia przyjęto takie, w których wykładniki stanu zapalnego (CRP i WBC) były podwyższone (CRP > 0,5 g/dl, WBC > 17 000 / mm³), natomiast wszystkie inne wyniki badań dodatkowych były w granicach normy. Wszystkie zakażenia stwierdzone u noworodków miały charakter EOD, czyli infekcji o wczesnym początku ujawniających się do 7. doby życia dziecka.

Stwierdzono istotną statystycznie różnicę w odsetku noworodków z infekcją pomiędzy grupami I i III, I i grupą kontrolną, II i III, II i grupą kontrolną ($p < 0,05$), brak natomiast istotnej statystycznie różnicy pomiędzy grupami I i II oraz III i grupą kontrolną ($p > 0,05$).

Stwierdzono występowanie istotnej statystycznej różnicy w odsetku dzieci zakażonych z ciąż z PROM i bez PROM (63,49% vs. 10,55%, $p < 0,05$).

Stwierdzono występowanie istotnej statystycznie różnicy w odsetku noworodków wymagających leczenia w przypadku stosowania antybiotykoterapii okołoporodowej ≥ 4 godzin i < 4 godzin (14,54% vs. 30,37%, $p < 0,05$).

Wyniki uzyskane w niniejszej pracy jednoznacznie wskazują na zmniejszenie ilości powikłań związanych z infekcjami GBS wśród noworodków matek GBS-dodatnich w przypadku stosowania antybiotykoterapii okołoporodowej.

Istotnym elementem okazuje się być czas stosowania profilaktyki, który jest najkorzystniejszy w wymiarze co najmniej 4 godzin.

Duże znaczenie ma również występowanie lub nie PROM, gdzie włączenie antybiotyku w przypadku nosicielstwa GBS powinno się odbyć w jak najkrótszym czasie od momentu pęknięcia błon.

Nie ma natomiast istotnego statystycznie znaczenia sposób ukończenia ciąży (drogami natury, czy cięciem cesarskim).

Bardzo istotne jest nie stosowanie przedporodowej eradykacji GBS, ponieważ zmniejsza ona skuteczność antybiotykoterapii okołoporodowej i zwiększa ryzyko infekcji u noworodków.

Evaluation of the effectiveness of perinatal antibiotic therapy in pregnant women with GBS infection – summary.

Streptococcus agalactiae is a beta-hemolytic group B streptococcus (GBS - Group B *Streptococcus*), which can colonize the lower intestinal tract, rectum and vagina. The bacterium is present in approximately 10 - 30% of all women that usually have no symptoms of infection. One group particularly vulnerable to increased proliferation of GBS are pregnant women. This fact is important because of the existing high risk of bacterial colonization of the newborn (70%) and the possibility of serious complications for the baby.

GBS infection is a major cause of meningitis, neonatal pneumonia, sepsis, neonatal death, septic abortion, chorioamnionitis and premature rupture of the membranes, endometritis, pyelonephritis, cellulitis, puerperal sepsis and other perinatal infections most often in the form of respiratory tract diseases, pneumonia and sepsis.

Before the introduction of routine screening for group B streptococcal colonization in pregnant women, before 1990, in the United States each year reported 7600 cases of neonatal infections, of which 310 ended in death. With the introduction of standards for the detection of GBS in pregnant women, improving the quality of routine microbiological diagnostics, as well as the use of antibiotic prophylaxis, managed to reduce infant mortality from 15-25% in the 80s to 4-6% in the 90s.

In Poland, there is a growing number of women colonized with GBS, and the growing number of newborns with the current GBS colonization.

The use of suitable standardized diagnostic procedures (vaginal culture between 35 - 37 weeks of gestation, and the identification of suitable microbial culture) and perinatal

antibiotic therapy can significantly reduce the incidence of disease in children and life-threatening complications.

The aim of this study was to evaluate the effectiveness of perinatal antibiotic prophylaxis in GBS positive pregnant women, with respect to infants, depending on the method of pregnancy termination, on the period of treatment, on the occurrence or not of the premature rupture of membranes (PROM) and to assess the effects of outpatient eradication of *Streptococcus agalactiae* during pregnancy.

The research was a retrospective study. Medical records of 418 pregnant women (single, full-term pregnancies) who gave birth in the Department of Obstetrics and Gynaecology of Regional Hospital in Kalisz in 2011 were used in the study. The women were diagnosed with vaginal colonization of beta-hemolytic streptococcus and have been subjected to varying degrees of perinatal antibiotic therapy (various period of time of drug administration).

First-line antibiotic prophylaxis against GBS was ampicillin administered intravenously at a dose of 2 g as a first dose, then 1 g every 4 hours until the delivery, in the case of allergy to penicillin, vancomycin was administered intravenously at a dose of 1g every 12 hours. Based on medical records, the analysis of postnatal condition of 418 newborns was made and occurrence of the complications dependent on GBS colonization was assessed. The incidence of complications, depending on the type of delivery, on duration of perinatal antibiotic treatment, on the moment the drug was incorporated and on the occurrence or not of PROM was compared.

For statistical analysis program CSS STATISTICA v.6 was used and Chi² independence test and nonparametric Kruskal - Wallis test were used. Statistical hypotheses were verified at the significance level $p < 0.05$.

Carrying out the study was approved by the Bioethics Committee of the Karol Marcinkowski University of Medical Sciences in Poznań (Resolution No. 965/11 dated 05.01.2012).

The average age of women was 27.9 years (18 - 42 years). Women subjected to perinatal prophylaxis (n = 150) who gave birth vaginally were included in group I, 150 patients who received an antibiotic and in whom caesarean section was performed constituted a group II, and 32 patients who have already undergone outpatient antibiotic therapy to eradicate the bacteria in pregnancy – a group III. The control group comprised 86 consecutive women who, because of too short time from the moment of arrival at the hospital to give birth (adopted in the second stage of labor) or because of the lack of culture and no indication in the interview for perinatal prophylaxis, were not subjected to antibiotic therapy.

In group I PROM occurred in 39 pregnant women, in the second group – in 24 pregnant women, in the third group – in 12 patients and in the control group - in 27 women.

Perinatal antibiotic ≥ 4 hours was used in 81 patients having physiological labor (including 17 with PROM) and in 84 women with pregnancy terminated by caesarean section (including 24 with PROM).

Out of the 32 patients who had made an attempt to eradicate GBS during pregnancy, perinatal antibiotic therapy ≥ 4 hours was used in 19 of them (including 8 patients with PROM).

Out of the 418 infants in the study 24.88% (n = 104) showed symptoms of infection and required treatment with antibiotics. On the basis of physical examination, laboratory tests results and clinical symptoms, pneumonia was found in 41 infants (39.42%), urinary tract infection (UTI) in 12 infants (11.54%), co-occurrence of pneumonia and UTI in 11 infants (10.58%), neonatal sepsis in 2 (1.92%) and infections of the undetermined starting point in 38 neonates (36.54%). For infections of undetermined starting point were adopted these in

which the markers of inflammation (CRP and WBC) were elevated (CRP > 0.5 g / dl, WBC > 17 000 / mm³), and all other results of additional tests were within normal limits. All infections in neonatal were reported as EOD - early-onset diseases that are revealing to 7th day of life.

Statistically significant difference in the percentage of newborns with infection between groups I and III, I and the control group, II and III, II and the control group was found ($p < 0.05$), whereas no statistically significant difference between groups I and II, III and the control group was found ($p > 0.05$).

The occurrence of statistically significant difference in the proportion of children infected from pregnancies with and without PROM (63.49% vs. 10.55%, $p < 0.05$).

The occurrence of a significant difference in the percentage of infants requiring treatment in case of perinatal antibiotics prophylaxis ≥ 4 hours and < 4 hours was found (14.54% vs. 30.37%, $p < 0.05$).

The results obtained in this study clearly indicate that the reduction of complications of GBS infections in newborns that are born to GBS-positive mothers is significant in case of perinatal antibiotic prophylaxis.

An important element turns out to be the time of prevention, which is the most preferred of at least 4 hours.

Also of importance is the occurrence or not of PROM. In case of PROM and GBS carriers antibiotics should be included as soon as possible after rupture of membranes.

There is no statistically significant importance as the completion of pregnancy is considered (vaginal or caesarean section).

It is important to not try to eradicate GBS during pregnancy because it reduces the effectiveness of perinatal antibiotics prophylaxis and increases the risk of neonatal infection.

Piśmiennictwo:

1. Kotarski J, Heczko PB, Lauterbach R, Niemiec T, Leszczyńska-Gorzela B. Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego dotyczące wykrywania nosicielstwa paciorkowców grupy B (GBS) u kobiet w ciąży i zapobiegania zakażeniom noworodków. *Ginekol Pol.* 2008;79:221-223.
2. Heczko PB, Niemiec T, Lauterbach R, Przondo-Mordarska H, Struś M, Drzewiecki A, Brzychcy-Włoch M. Zalecenia dotyczące wykrywania nosicielstwa paciorkowców grupy B (GBS) u kobiet w ciąży i zapobiegania zakażeniom u noworodków spowodowanym przez ten drobnoustrój. *Zakażenia*; 2008:87-96.
3. Schuchat A., Oxtoby M., Cochi S. i wsp. :Population-base risk factors for neonatal group B streptococcal disease: Results of a cohort study in metropolian Atlanta. *J Infect Dis.* 1990; 162: 672.
4. Fraile M. R., Cabero L., Andreu A., Rao G. G.: Prevention of group B streptococcal neonatal disease. A plea for a European Consensus. *Microbiol Infect*, 2001; 7 (1): 245–9.
5. Tsoia M., Psoma M., Gavrili S. i wsp.: Group B Streptococcus colonization of Greek pregnant women and neonates: prevalence, risk factors and serotypes. *Clin Microbiol Infect*, 2003; 9: 832–8.
6. Brimil N., Barthell E., Heindricks U., Kuhn M., Lütticken R., Spellerberg B.: Epidemiologia of *S. agalactiae* colonization in Germany. *Int J Med Microbiol*, 2006; 296 (1): 39–44.
7. Kowalska B., Niemiec K. T., Drejewicz H., Polak K., Kubik P., Elmidaoui A., Gierowska-Bogusz B., Jaczynska R.: Prevalence of group B streptococcal colonization in pregnant women and their newborns based on the results of examination of patients in the Obstetric and Gynecology Department of the

- National Research Institute of Mother and Child—a pilot study. *Ginekol Pol.* 2003; 74 (10): 1223–7.
8. Strus M., Pawlik D., Brzywczy-Włoch M., Gosiewski T., Rytlewski K., Lauterbach R., Heczko P. B.: Group B streptococcus (GBS) colonization of pregnant women and their children observed on obstetrical and neonatal wards of the University Hospital in Cracow, Poland. *J Med. Microbiol.* 2009; 58: 228-233.
 9. Wilk K., Sikora J., Bakon I., Kossowski P., Szymanska-Toczek Z., Szkodny E., Włoch S.: Significance of group B streptococcus (GBS) infections in parturient women. *Ginekol Pol* 2003; 74 (6): 463–7.
 10. Ryan KJ; Ray CG, Sherris Medical Microbiology, 4th ed. McGraw Hill 2004 ISBN 0-8385-8529-9
 11. Patterson MJ, Streptococcus. *Baron's Medical Microbiology* (Barron S et al, eds.) 4th ed., Univ of Texas Medical Branch 1996 (via NCBI Bookshelf) ISBN 0-9631172-1-1
 12. Facklam R. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin Microbiol Rev*; 2002: 613-30
 13. Szewczyk Eligia M., *Diagnostyka bakteriologiczna*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2007: 32
 14. Ruoff KL. Recent taxonomic changes in the genus *Enterococcus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 1990: 75-9
 15. Fry RM. Fatal infections by haemolytic streptococcus group B. *Lancet*. 1938;231(5969):199-201.
 16. Taminato M, Fram D, Torloni MR, Belasco AG, Saconato H, Barbosa DA. Screening for group B Streptococcus in pregnant women: a systematic review and meta-analysis. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2011;19(6):1470-8. Review.

17. CDC. Prevention of perinatal Group B Streptococcal Disease. A Public Health Perspective. *MMWR-Comm Rep.* 1996(RR-7):1-24.
18. CDC. Prevention of Perinatal group B Streptococcal disease. Revised Guidelines from CDC. *MMWR Comm. Rep* 2002;51(RR-11):1-24.
19. CDC. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease Revised Guidelines from CDC, 2010. *MMWR* 2010;59(RR-10):1-27.
20. Ke D., Menard C., Picard F. J., Boissinot M., Ouellette M., Roy P. H., Bergeron M. G.: Development of conventional and real-time PCR assays for the rapid detection of group B streptococci. *Clin Chem*, 2000; 46 (3): 324–31.
21. Liu D., Hollingshead S., Swiatlo E. Lawrence M. L., Austin F. W.: Rapid identification of *Streptococcus pyogenes* with PCR primers from a putative transcription regulator gene. *Res Microbiol* 2005, 156 (4): 564–7.
22. Chohan L., Hollier L., Bishop K., Kilpatrick C.: Patterns of Antibiotic Resistance Among Group B *Streptococcus* Isolates: 2001–2004. *Inf Dis Obs Gyn* 2006; 57492: 4.
23. Jędrasiak U, Tarasiuk A, Wyględowska G. Paciorek b-hemolizujący z grupy B – dominujący czynnik w patogenezie infekcji okresu noworodkowego. *Nowa Pediatría* 2004; 3: 106-109.
24. Lindemann R., *Tidsskr Nor Laegeforen*: Historical birth tragedy. Neonatal infections still of interest today as they were 300 years ago. 1990 Dec 10, 110(30):3860-2.
25. Charles D., Larsen B.: Streptococcal puerperal sepsis and obstetric infections: a historical perspective. *Rev Infect Dis.* 1986 May-June, 8(3):411-22.
26. Adriaanse A.H. et al.: The combat against puerperal fever. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2000 Jun, 90(2):153-8.

27. Rajtar-Leontiew Z. et al.: Streptococcus B infection in newborns and infants. *New Medicine* 1998, 1:2-3
28. McMillan J.A.: Guidelines for the prevention of perinatal GBS infections. *Contemporary Pediatrics* 1996, 13:12-27.
29. Davis R.L. et al.: Introduction of the new Centers for Disease Control and prevention group B streptococcal prevention guideline at a large West Coast health maintenance organization. *Am J Obstet Gynecol* 2001, Vol. 184, Number 4, March: 603-610.
30. Tumbaga P, Philips A. Perinatal group B streptococcal infections: past, present, and future. *NeoReviews*. 2003, 4, 65-72.
31. Ohlsson A, Shah V. Intrapartum antibiotics for known maternal Group B streptococcal colonization. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009, (3):CD007467.
32. Berardi A, Lugli L, Baronciani D, et al. GBS Prevention Working Group of Emilia-Romagna. Group B Streptococcus early-onset disease in Emilia-romagna: review after introduction of a screening-based approach. *Pediatr Infect Dis J*. 2010, 29, 115-121.
33. Goins W, Talbot T, Schaffner W, et al. Adherence to perinatal group B streptococcal prevention guidelines. *Obstet Gynecol*. 2010, 115, 1217-1224.
34. Renner R, Renner A, Schmid S, et al. Efficacy of a strategy to prevent neonatal early-onset group B streptococcal (GBS) sepsis. *J Perinat Med*. 2006, 34, 32-38.
35. Vergnano S, Embleton N, Collinson A, et al. Missed opportunities for preventing group B streptococcus infection. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2010, 95, F72-F73.

36. Nomura M, Passini Júnior R, Oliveira, et al. Group B streptococcus maternal and neonatal colonization in preterm rupture of membranes and preterm labor. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2009, 31, 397-403. Portuguese.
37. Tumbaga F, Philips A. Perinatal Group B Streptococcal Infections and the New Guidelines: An Update. *NeoReviews.* 2006, 7, 524-527.
38. Larsen JW, Sever JL. Group B Streptococcus and pregnancy: a review. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198:440–448.
39. Larsen JW Jr, London WT, Palmer AE, et al. Experimental group B streptococcal infection in the rhesus monkey. I. Disease production in the neonate. *Am J Obstet Gynecol* 1978;132:686–690.
40. Yow MD, Mason EO, Leeds LJ, et al. Ampicillin prevents intrapartum transmission of group B streptococcus. *JAMA* 1979;241:1245–1247.
41. Boyer KM, Gotoff SP. Prevention of early-onset neonatal group B streptococcal disease with selective intrapartum chemoprophylaxis. *N Engl J Med* 1986;314:1665–1669.
42. Garland SM, Fliegner JR. Group B streptococcus (GBS) and neonatal infections: the case for intrapartum chemoprophylaxis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1991;31:119–122.
43. Matorras R, Garcia-Perea A, Madero R, et al. Maternal colonization by group B streptococci and puerperal infection; analysis of intrapartum chemoprophylaxis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1991;38:203–207.
44. Tuppurainen N, Hallman M. Prevention of neonatal group B streptococcal disease: intrapartum detection and chemoprophylaxis of heavily colonized parturients. *Obstet Gynecol* 1989;73:583–587.

45. Guidelines for prevention of group B streptococcal (GBS) infection by chemoprophylaxis. *AAP News* 1992;8:14.
46. Zaleznik DF, Rench MA, Hillier S, et al. Invasive disease due to group B *Streptococcus* in pregnant women and neonates from diverse population groups. *Clin Infect Dis* 2000;30:276–281.
47. American College of Obstetricians and Gynecologists, Committee on Obstetric Practice. Prevention of early-onset group B streptococcal disease in newborns. Washington, D.C.: American College of Obstetricians and Gynecologists; 1996.
48. AAP, Committee on ID Committee on Fetus and Newborn. Revised guidelines for prevention of early-onset group B streptococcal (GBS) disease. *Pediatrics* 1997;99:489–496.
49. Early-onset group B streptococcal disease - United States, 1988-1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2000;49(35):793–796.
50. Schrag SJ, Zywicki S, Farley MM, et al. Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *N Engl J Med* 2000;342:15–20.
51. Baker CJ. CDC revises group B strep prevention guidelines. *AAP News* 2002;21(3):118.
52. Schrag SJ, Zywicki S, Farley MM, et al. Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *N Engl J Med* 2000;342:15–20.
53. Phares CR, Lynfield R, Farley MM, et al. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999-2005. *JAMA* 2008;299:2056–2065.
54. Lijoi D, Di CE, Ferrero S, et al. The efficacy of 2002 CDC guidelines in preventing perinatal group B *Streptococcal* vertical transmission: a prospective study. *Arch Gynecol Obstet* 2007;275:373–379.

55. CDC. Perinatal group B streptococcal disease after universal screening recommendations—United States, 2003-2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2007;56:701–705.
56. CDC. Trends in perinatal group B streptococcal disease - United States, 2000-2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58:109–112.
57. Stoll BJ, Gordon T, Korones SB, et al. Early-onset sepsis in very low birth weight neonates: a report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J Pediatr* 1996;129:72–80.
58. Stoll BJ, Hansen NI, Higgins RD, et al. Very low birth weight preterm infants with early onset neonatal sepsis: the predominance of gram-negative infections continues in the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, 2002-2003. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24:635–639.
59. Boyer KM, Gadzala CA, Kelly PD, et al. Selective intrapartum chemoprophylaxis of neonatal group B streptococcal early-onset disease. II. Predictive value of prenatal cultures. *J Infect Dis* 1983;148:802–809.
60. Puopolo KM, Madoff LC, Eichenwald EC. Early-onset group B streptococcal disease in the era of maternal screening. *Pediatrics* 2005;115:1240–1246.
61. Chen KT, Puopolo KM, Eichenwald EC, et al. No increase in rates of early-onset neonatal sepsis by antibiotic-resistant group B Streptococcus in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:1167–1171.
62. Bergseng H, Rygg M, Bevanger L, et al. Invasive group B streptococcus (GBS) disease in Norway 1996-2006. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2008, 27, 1193-1199.

63. Panda B, Iruretagoyena I, Stiller R, et al. Antibiotic resistance and penicillin tolerance in anovaginal group B streptococci. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009, 22, 111-114.
64. Bizzarro MJ, Dembry LM, Baltimore RS, et al. Changing patterns in neonatal *Escherichia coli* sepsis and ampicillin resistance in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *Pediatrics* 2008;121:689–696.
65. Hyde TB, Hilger TM, Reingold A, et al. Trends in incidence and antimicrobial resistance of earlyonset sepsis: population-based surveillance in San Francisco and Atlanta. *Pediatrics* 2002;110:690–695.
66. Alarcon A, Pena P, Salas S, et al. Neonatal early onset *Escherichia coli* sepsis: trends in incidence and antimicrobial resistance in the era of intrapartum antimicrobial prophylaxis. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:295–299.
67. Jones B, Peake K, Morris AJ, et al. *Escherichia coli*: a growing problem in early onset neonatal sepsis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2004;44:558–561.
68. Adams Waldorf KM, Gravett MG, McAdams RM, Paoletta LJ, Gough GM, Carl DJ, et al. Choriodecidual Group B Streptococcal Inoculation Induces Fetal Lung Injury without Intra-Amniotic Infection and Preterm Labor in *Macaca nemestrina*. *PLoS One.* 2011;6(12):e28972.
69. Kraśnianin E, Skret-Magierło J, Witalis J i wsp.. The incidence of *Streptococcus* Group B in 100 parturient women and the transmission of pathogens to the newborn. *Ginekol Pol.* 2009, 80, 285-289.
70. Kociszewska-Najman B, Oslislo A, Szymusik I, Pietrzak B, Jabiry-Zieniewicz Z. Śródporodowa profilaktyka zakażeń paciorkowcami grupy B – doświadczenia własne *Ginekol Pol.* 2010 Dec;81(12):913-7.

71. Velaphi S, Siegel J, Wendel G, et al. Early-Onset Group B Streptococcal Infection After a Combined Maternal and Neonatal Group B Streptococcal Chemoprophylaxis Strategy. *Pediatrics*. 2003, 111, 541-547.
72. Hyde T, Hilger T, Reinhold A, et al. Trends in Incidence and Antimicrobial Resistance of Early-Onset Sepsis: Population-Based Surveillance in San Francisco and Atlanta. *Pediatrics*. 2002, 110, 690-695.
73. Goins W, Talbot T, Schaffner W, et al. Adherence to perinatal group B streptococcal prevention guidelines. *Obstet Gynecol*. 2010, 115, 1217-1224
74. Kenyon SL, Taylor DJ, Tarnow-Mordi W. Broad-spectrum antibiotics for preterm, prelabour rupture of fetal membranes: the ORACLE I randomised trial. ORACLE Collaborative Group. *Lancet* 2001;357:979–988.
75. Edwards MS. Group B streptococcal conjugate vaccine: a timely concept for which the time has come. *Hum Vaccin* 2008;4:444–448.
76. Baker CJ, Kasper DL. Group B streptococcal vaccines. *Rev Infect Dis* 1985;7:458–467.
77. Sinha A, Lieu TA, Paoletti LC, et al. The projected health benefits of maternal group B streptococcal vaccination in the era of chemoprophylaxis. *Vaccine* 2005;23:3187–3195.
78. Baker CJ, Paoletti LC, Wessels MR, et al. Safety and immunogenicity of capsular polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccines for group B streptococcal types Ia and Ib. *J Infect Dis* 1999;179:142–150.
79. Baker CJ, Paoletti LC, Rench MA, et al. Use of capsular polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccine for type II group B *Streptococcus* in healthy women. *J Infect Dis* 2000;182:1129–1138.

80. Baker CJ, Rench MA, McInnes P. Immunization of pregnant women with group B streptococcal type III capsular polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccine. *Vaccine* 2003;21:3468–3472.
81. Baker CJ, Paoletti LC, Rench MA, et al. Immune response of healthy women to 2 different group B streptococcal type V capsular polysaccharide-protein conjugate vaccines. *J Infect Dis* 2004;189:1103–1112.
82. Margarit I, Rinaudo CD, Galeotti CL, et al. Preventing bacterial infections with pilus-based vaccines: the group B streptococcus paradigm. *J Infect Dis* 2009;199:108–115.
83. Healy CM, Baker CJ. Prospects for prevention of childhood infections by maternal immunization. *Curr Opin Infect Dis* 2006;19:271–276.
84. Baker CJ, Rench MA, McInnes P. Immunization of pregnant women with group B streptococcal type III capsular polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccine. *Vaccine* 2003;21:3468–3472.
85. Edwards, MS. Vaccines against group B streptococcus. In: Levine, MM.; Kaper, JB.; Rappuoli, R., et al., editors. *New Generation Vaccines*. Vol. 3. New York-Basel: Marcel Dekker, Inc; 2004. p. 711-21.
86. Edwards MS. Group B streptococcal conjugate vaccine: a timely concept for which the time has come. *Hum Vaccin* 2008;4:444–448.
87. Lachenauer CS, Kasper DL, Shimada J, et al. Serotypes VI and VIII predominate among group B streptococci isolated from pregnant Japanese women. *J Infect Dis* 1999;179:1030–1033.
88. Hickman ME, Rench MA, Ferrieri P, et al. Changing epidemiology of group B streptococcal colonization. *Pediatrics* 1999;104:203–209.

89. Johri AK, Paoletti LC, Glaser P, et al. Group B Streptococcus: global incidence and vaccine development. *Nat Rev Microbiol* 2006;4:932–942.
90. Mora M, Donati C, Medini D, et al. Microbial genomes and vaccine design: refinements to the classical reverse vaccinology approach. *Curr Opin Microbiol* 2006;9:532–536.
91. Rappuoli R. Reverse vaccinology. *Curr Opin Microbiol* 2000;3:445–450.
92. Stade B, Shah V, Ohlsson A. Vaginal chlorhexidine during labour to prevent early-onset neonatal group B streptococcal infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2004;CD003520
93. Cutler RR, Odent M, Hajj-Ahmad H, et al. In vitro activity of an aqueous allicin extract and a novel allicin topical gel formulation against Lancefield group B streptococci. *J Antimicrob Chemother* 2009;63:151–154.
94. Cheng Q, Nelson D, Zhu S, et al. Removal of group B streptococci colonizing the vagina and oropharynx of mice with a bacteriophage lytic enzyme. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:111–117.
95. Natarajan G, Johnson YR, Zhang F, et al. Real-time polymerase chain reaction for the rapid detection of group B streptococcal colonization in neonates. *Pediatrics* 2006;118:14–22.
96. Picard FJ, Bergeron MG. Laboratory detection of group B Streptococcus for prevention of perinatal disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004;23:665–671.
97. Haberland CA, Benitz WE, Sanders GD, et al. Perinatal screening for group B streptococci: costbenefit analysis of rapid polymerase chain reaction. *Pediatrics* 2002;110:471–480.