



Preprečevanja zgodnjih invazivnih okužb novorojenčka zaradi streptokoka skupine B – mikrobiološke metode za ugotavljanje nosilstva pred in ob porodu

Prevention of early invasive infections with group B streptococci in the newborn – microbiological methods for detection of colonization before and at birth

Ajda Kovačič,¹ Gal Kranjc,¹ Miha Lučovnik,^{1,2} Petra Vovko,³ Samo Jeverica³

Izvleček

Ob koncu lanskega leta je Zdravstveni svet Republike Slovenije potrdil program preprečevanja zgodnjih invazivnih okužb novorojenčkov, povzročenih s streptokokom skupine B, ki vključuje univerzalno presejanje nosečnic v 35.–37. tednu nosečnosti. V prispevku smo pregledali različne diagnostične metode presejanja in dejavnike, ki pomembno vplivajo na njihovo uspešnost tako v ginekološki ambulanti kakor tudi v mikrobiološkem laboratoriju. Bralca opozarjamo na pravilnost odvzema kužnine, mu predstavimo izbrano strategijo testiranja s kombinacijo obogatene kulture in molekularnega testiranja ter mu ponujamo seznam registriranih molekularnih testov, primernih za testiranje. V zadnjem delu prispevka razpravljamo o pomenu hipervirulentnega klon CC-17, ki povzroča večino invazivnih okužb novorojenčkov v Sloveniji, in o metodah, s katerimi ga prepoznamo.

Abstract

At the end of last year, the Health Council of the Republic of Slovenia adopted a programme for the prevention of early invasive neonatal infections caused by group B streptococci, which includes universal screening of pregnant women between the 35th and 37th week of pregnancy. In this article, we provide an overview of the different diagnostic modalities for screening for colonization and the factors that significantly influence the success of screening, both in gynaecological practice and in the microbiology laboratory. We instruct the reader on the proper collection and transport of specimens. We also present the chosen testing strategy, using a combination of enriched culture and molecular testing, and provide the reader with a list of registered molecular tests suitable for screening. In the last part of the article, we discuss the importance of the hypervirulent clone CC-17, which causes most invasive neonatal infections in Slovenia, and the methods by which it can be detected.

¹ Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

² Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

³ Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Maribor, Slovenija

Korespondenca / Correspondence: Samo Jeverica, e: samo.jeverica@nlzoh.si

Ključne besede: nosečnost; neonatalne okužbe; Streptococcus agalactiae; diagnostične metode; molekularna diagnostika; presejanje

Key words: pregnancy; neonatal infections; streptococcus agalactiae; diagnostic methods; molecular detection; screening

Prispelo / Received: 20. 12. 2020 | **Sprejeto / Accepted:** 5. 4. 2021

Citirajte kot/Cite as: Kovačič A, Kranjc G, Lučovnik M, Vovko P, Jeverica S. Preprečevanja zgodnjih invazivnih okužb novorojenčka zaradi streptokoka skupine B – mikrobiološke metode za ugotavljanje nosilstva pred in ob porodu. Zdrav Vestn. 2022;91(7–8):309–18. DOI: <https://doi.org/10.6016/ZdravVestn.3202>



Avtorske pravice (c) 2022 Zdravniški Vestnik. To delo je licencirano pod Creative Commons Priznanje avtorstva-Nekomercialno 4.0 mednarodno licenco.

1 Uvod

Delež invazivnih okužb (sepsa, meningitis in pljučnica) pri obolenosti in umrljivosti novorojenčkov in otrok do dopolnjenega tretjega meseca starosti je pomemben (1). V Sloveniji je približno petina neonatalnih smrti posledica invazivne okužbe (2). Med povzročitelji je v razvitem svetu, tudi pri nas, najpogostejši streptokok skupine B (SGB), ki povzroči do 50 % tovrstnih okužb (2,3). Razdelimo jih na zgodnje (0–7 dni starosti) in pozne (8–90 dni starosti). Zgodnje neonatalne okužbe s SGB so posledica vertikalnega prenosa bakterij z matere v času poroda. Njihova incidenca je v Sloveniji za > 30 % višja od svetovne in evropske ocene in znaša 0,53/po 1.000 rojstev (3,4). Z napredkom zdravljenja se je smrtnost po tovrstnih okužbah znižala pod 10 %, vendar pa ima velik delež otrok po ozdravitvi lahko trajne posledice v umskem in motoričnem razvoju (20–30 %), kar je pomembno zdravstveno in ekonomsko breme družbe (4–6).

Delež slovenskih nosečnic, ki so nosilke SGB v črevesju ali nožnici, so ugotavljali v dveh raziskavah. Znašal je 17 % in 23 % (7,8). Prenos bakterije z matere na otroka se med vaginalnim porodom zgodi pri polovici nosilk, invazivna okužba novorojenčka pa nastane pri 1–2 % novorojenčkov (9). V 80. letih prejšnjega stoletja so ugotovili, da zgodnje invazivne okužbe lahko učinkovito (> 90 %) preprečimo z obporodno antibiotično profilakso, pri kateri mati v času poroda intravensko prejme antibiotik (9).

Nosečnice za antibiotično profilakso lahko izberemo na tri načine: a) na podlagi dejavnikov tveganja v času poroda (prezgodnji porod, dolgotrajen razpok mehurja, povišana telesna temperatura, prisotnost SGB v urinu v nosečnosti ali okužba otroka s SGB v prejšnji nosečnosti), b) na podlagi ugotovljenega nosilstva SGB v zadnjem trimesečju nosečnosti, tipično med 35. in 37. tednom ali c) na podlagi ugotovljenega nosilstva SGB pri otročnici v času poroda (10). V številnih raziskavah so ugotovili, da je presejanje med 35. in 37. tednom nosečnosti bolj učinkovito od zgolj prepoznavanja dejavnikov tveganja (11,12). V nedavni nacionalni raziskavi so bili dejavniki tveganja ob porodu odsotni pri 52 % obolelih otrok, kar potrjuje nezadostnost preventive, ki temelji zgolj na tovrstni oceni tveganja (4).

Zdravstveni svet RS je nedavno sprejel predlog o uvedbi univerzalnega presejanja nosilstva za SGB v 35. do 37. tednu nosečnosti. V prispevku predstavljamo naravni potek kolonizacije ter že uveljavljene in nove metode za ugotavljanje nosilstva SGB pri nosečnicah.

2 Naravni potek kolonizacije

Okužba in kolonizacija matere sta nujni pogoj za prenos bakterije na otroka pri zgodnjem tipu okužbe. Domnevamo, da se mati kolonizira po fekalno-oralni poti od drugega človeka (tesni stik, tudi spolni), iz okolice (zaradi slabe higijene) ali s hrano (mlečni izdelki), nato pa se kolonizacija iz črevesa prenese na različne predele telesa, predvsem v področje sečil in rodil. Pogosto je hkrati prisotna kolonizacija več predelov telesa (13–15). Dinamika kolonizacije je verjetno bolj kompleksna od splošnega prepričanja. V danski raziskavi so nosečnice spremljali v obdobju med nosečnostjo in po njej. Ugotovili so, da v času študije samo dobra polovica žensk (53 %) ni bila kolonizirana. Preostale so bile kolonizirane bodisi stalno (28 %) bodisi prehodno (19 %). Populacija bakterij je bila pri posamezni ženski gensko homogena, genotip seva se s časom ni zamenjal. Sklepali so, da je za uspešno odkrivanje bakterije pomembno predvsem trenutno razmerje SGB v primerjavi z ostalimi bakterijami črevesne mikrobiote (16).

Stanje kolonizacije v poznem tretjem trimesečju nosečnosti je napovedni dejavnik dejanske kolonizacije v času poroda. S podaljševanjem časa od testiranja do poroda se napovedna vrednost takšnega testiranja manjša. Negativna napovedna vrednost brisa, odvzetega < 5 tednov pred porodom, znaša zadovoljivih 95–98 %, po tem obdobju pa dokaj strmo upade na 80 % (17,18). Slabša negativna napovedna vrednost je razlog, da v okoljih, ki izvajajo presejanje večino zgodnjih invazivnih okužb novorojenčkov opazamo pri nosečnicah z negativnim rezultatom presejalnega testa pred porodom. Takšni primeri so lahko posledica lažno negativnega testa ali novo nastale kolonizacije nosečnice v obdobju od testiranja do poroda (11).

Ameriško združenje porodničarjev in ginekologov (*angl.* American College of Obstetricians and Gynecologists, ACOG) je v najnovejših smernicah odvzem brisa nožnice in zadnjika za ugotavljanje nosilstva za SGB zaradi slabše negativne napovedne vrednosti testiranja v obdobju > 5 tednov pred porodom spremenilo svoje priporočilo. Zdaj namesto odvzema brisa po 35. 0/7 tednu nosečnosti priporočajo odvzem brisa med 36. 0/7 in 37. 6/7 tednom nosečnosti (19). Na ta način so okno do poroda ob roku skrajšali na 5 tednov (36. 0/7 do 41. 0/7). V primeru, da poteka porod > 5 tednov od odvzema brisa, bi bilo smiselno bris ponoviti.

Mnenje avtorjev prispevka je, da takšna rešitev odpravlja nekatere pomanjkljivosti pri ugotavljanju

kolonizacije pred porodom. Želimo pa opozoriti, da po dopolnjenem 37. tednu nosečnosti začne naraščati tveganje, da se bo porod začel, preden bomo prejeli izvid testiranja. Glede na to, da naš sistem predporodnega varstva do 37. tedna ne predvideva tedenskih pregledov, predlagamo, da naše priporočilo za zdaj ostane nespremenjeno, torej med 35. in 37. tednom nosečnosti, ob komentarju, da pa je testiranje med 36. in 37. tednom primernejše, kadar je to mogoče. V prihodnosti bomo na podlagi podatkov iz posameznih obdobj priporočilo ustrezno spremenili.

3 Odkrivanje kolonizacije pred porodom

V nadaljevanju predstavimo osnovno mikrobiološko metodo za ugotavljanje kolonizacije pred porodom v času med 35. in 37. tednom nosečnosti, tj. obogateno kulturo, in navajamo nekatere pomembnejše izboljšave, ki povečujejo občutljivost preiskave.

3.1 Obogatena kultura

Mikrobiološka diagnostika ugotavljanja kolonizacije s SGB temelji na obogateni kulturi, pri kateri bris nožnice in zadnjika, odvzet z enim brisom ali z dvema, najprej kultiviramo v selektivnem tekočem gojišču (obogatitev) in ga po 16–24 urah inkubacije precepimo na eno od trdnih gojišč. Za obogatitev lahko uporabljamo Todd-Hewittov bujon z dodatkom antibiotikov, in sicer 15 mg/L nalidiksične kisline in 8 mg/L gentamicina, ali bujon Lim z dodatkom 15 mg/L nalidiksične kisline in 10 mg/L kolistina. Antibiotiki zavirajo rast po Gramu negativnih bakterij. Obogatitveni bujon po inkubaciji preko noči precepimo na enega od diferencialnih gojišč za prepoznavanje kolonij SGB, na krvni agar, na krvni agar z dodatkom kolistina in nalidiksične kisline (CNA agar) ali katerega od specializiranih komercialnih kromogenih gojišč. Precepljena trdna gojišča je treba kultivirati dodatnih 48 ur (12,20).

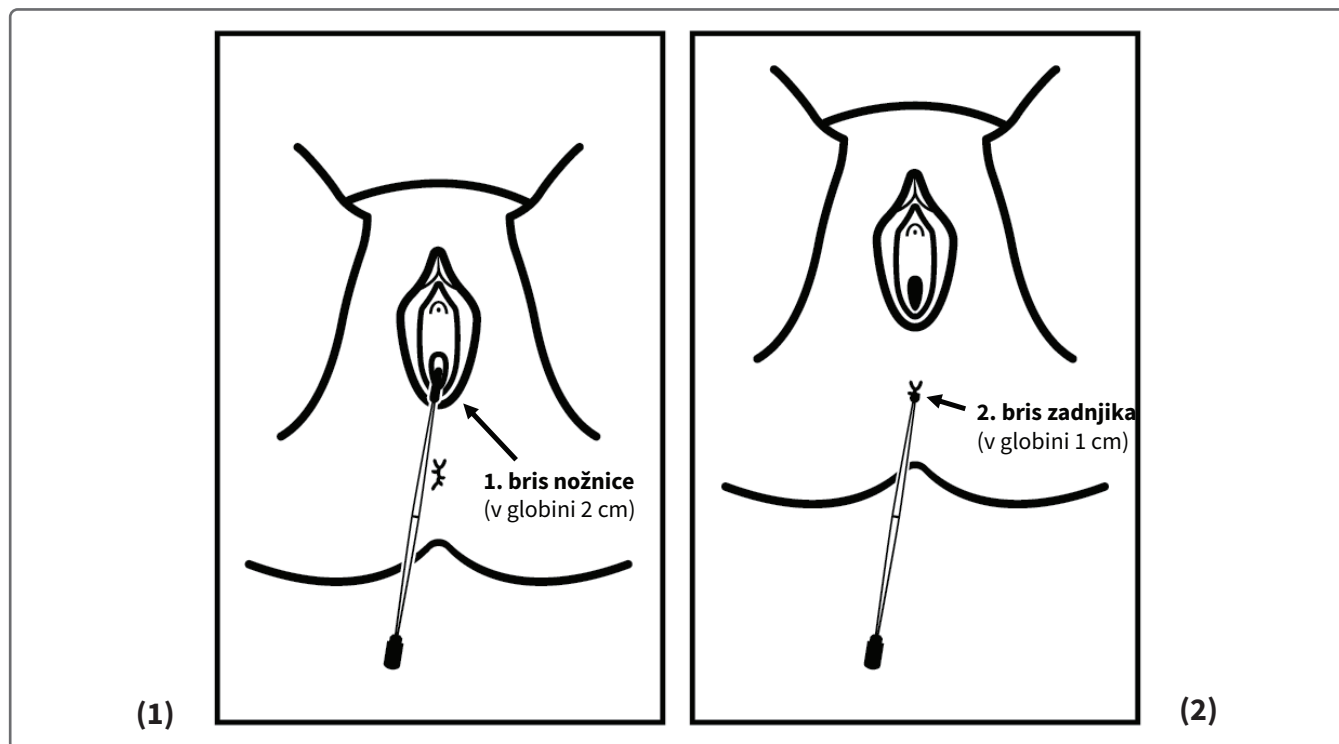
Prepoznavanje tipičnih kolonij SGB, za katere je značilna hemoliza beta, na trdnih gojiščih se v zadnjem času večinoma izvaja z masno spektrometrijo MALDI-TOF (*angl.* Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation Time of Flight). Lahko pa jo izvajamo tudi s katero od starejših metod prepoznavanja, bodisi z lateksno aglutinacijo bodisi z biokemičnimi testi. Kultiviranje bakterije nam zaenkrat edino omogoča testiranje občutljivosti SGB za antibiotike, kar je pomembno predvsem pri preobčutljivosti na beta-laktamske antibiotike in za nadzor odpornosti (12,20).

Problem presejanja s kulturo predstavljajo nehemolitični in nepigmentirani sevi SGB (NHNP sevi), ki se pojavljajo v 2–5 % pozitivnih vzorcev in prav tako lahko povzročijo težjo obliko bolezni (21). Odsotnost hemolize in pigmentacije kolonij vplivata predvsem na fenotipsko identifikacijo, ki zahteva večjo izkušnost osebja, večje število uporabljenih dodatnih testov za identifikacijo in je lahko vzrok za lažno negativne rezultate obogatene kulture. Podobno lahko kompetitivna rast bakterije *Enterococcus faecalis*, ki pogosto kolonizira črevo, obogatimo pa jo skupaj s streptokokom, zavira rast SGB na selektivnih gojiščih (22).

Naslednja dva dejavnika igrata pomembno vlogo pri uspešnem odkrivanju SGB v obogateni kulturi: a) obogatitev brisov v selektivnem bujonu in b) sočasni odvzem brisa nožnice in zadnjika (Slika 1). Obogatitev brisov v tekočem gojišču ima bistveno večjo občutljivost kot samo neposredno nacepljanje brisa na trdno gojišče. Ocenjujejo, da je brez obogatitve lažno negativnih do 50 % odvzetih brisov (12,23). Nadalje je zelo pomemben sočasni odvzem brisa nožnice in zadnjika. Tu gre predvsem za odraz naravnega poteka kolonizacije, pri katerem se kolonizira najprej črevo, v katerem se bakterija namnoži in nato prenese v nožnico. V večini raziskav so tako bakterijo pogostejše dokazali v zadnjiku in sicer vse do razmerja 2:1 (24,25). Sočasni odvzem kužnine iz obeh anatomskih mest izboljša odkrivanje za okoli 30 % (23).

Poudariti moramo, da je za odvzem kužnine odgovoren zdravnik ginekolog in da pravilnost odvzema kužnine, kot je to v mikrobiologiji pogosto, pomembno vpliva na pravilnost rezultatov. Zato skrbi podatek slovenske raziskave iz leta 2016, v kateri so bili pravilno odvzeti brisi zgolj v manjšini; komaj 17 % vseh brisov (8).

Pri obogateni kulturi moramo v laboratorij prenesti žive bakterijske celice. Zato so pomembni kakovostni transportni sistemi, ki jih sestavljajo brisi in transportno gojišče. Tradicionalno smo uporabljali brise s prepleteno bombažno konico in poltrdim transportnim gojiščem. Danes so na voljo tudi brisi z izboljšano sestavo in topografijo konice iz umetnih vlaken, ki preprečujejo ujetje bakterij v konici in izboljšajo njihovo sprostitve v okolje (26). Bakterije ohranijo viabilnost na brisu najmanj 48 ur na sobni temperaturi. Kadar brisov ne moremo poslati v laboratorij takoj, jih lahko hranimo v hladilniku (4 °C) do največ 4 dni (12). Nekateri proizvajalci brise kombinirajo z obogatitvenim bujonom (THBS, Lim, Carrot), kar pomeni, da v laboratoriju takšne brise lahko začnemo inkubirati brez dodatnega manipuliranja vzorca.



Slika 1: Navodila za odvzem brisa za ugotavljanje kolonizacije nožnice s streptokokom skupine B. Povzeto po navodilih Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (12). Najprej odvajamo bris nožnice v globini 2 cm (1), nato z istim brisom odvajamo bris zadnjika v globini 1 cm (2).

Poudarek: odvzem in prenos vzorca.

Za odvzem brisa nožnice in zadnjika potrebujemo bris s transportnim gojiščem (npr. Stuart, Amies), ki ga najprej vstavimo v spodnjo tretjino nožnice (2 cm globoko) in nato v začetni del zadnjika (1 cm globoko). V obeh anatomskih mestih rotiramo približno 5 sekund, da omogočimo dober sprejem kužnine na konico palčke. Odvzeto nato vstavimo v transportno gojišče in ga v roku 48 ur, po možnosti pa čimprej, pošljemo v mikrobiološki laboratorij. Prenos brisa poteka na sobni temperaturi. Kadar brisa isti dan ne moremo poslati v laboratorij, ga hranimo v hladilniku (+ 4 °C) do največ 4 dni (Slika 1) (12).

3.2 Izboljšave obogatene kulture

3.2.1 Kromogena gojišča

V tem prispevku kot kromogena gojišča opredeljujemo vsa gojišča, pri katerih pozitivnost enačimo s spremembo barve bodisi gojišča ali bakterijske kolonije. V to kategorijo bomo uvrstili tako tekoča kromogena gojišča, ki jih uporabljamo v fazi obogatitve (bujon Carrot), kot tudi trdna kromogena gojišča, ki jih uporabljamo za neposredno nacepitev ali za precepljanje po obogatitvi. Glede mehanizma nastanka barvne reakcije ločimo klasična kromogena gojišča in kromogena gojišča tipa Granada.

V zadnjih letih opažamo razcvet razvoja in uporabe klasičnih kromogenih gojišč za dokaz različnih bakterijskih patogenov, tudi za dokaz SGB (22). Klasična kromogena gojišča vsebujejo kromogene molekule (indoksilne spojine), vezane na substrat encimske reakcije, značilne za posamezno bakterijsko vrsto, ki se po

encimski reakciji sprostijo v okolico in kolonije obarvajo v značilno barvo (27). Za razliko od navadnega krvnega agarja in kromogenih gojišč tipa Granada, so le klasična kromogena gojišča sposobna zaznati seve streptokokov NHNP. Kultiviramo jih značilno v aerobnih pogojih, ki so optimalni za razgradnjo substratov in razvoj barvne reakcije. Ker kromogene spojine na svetlobi razpadejo, jih moramo hraniti v temi (22).

Klasična kromogena gojišča lahko uporabljamo tako za neposredno nacepitev kot tudi za precepljanje po obogatitvi. Sposobnost kromogenih gojišč, da obarvajo tudi seve bakterije NHNP, je osnovni razlog za njihovo izboljšano občutljivost. V primerjavi z ostalimi gojišči zaznajo okoli 5 % več pozitivnih kužnin, kar odlikava delež sevov NHNP v populaciji (28). Samo odkrivanje barve pa ni vedno enostavno. Kolonije SGB se lahko obarvajo slabše, predvsem kadar je komenzalna flora bakterij številčna in bistveno presega delež SGB. Na drugi strani spektra se lahko obarvajo tudi kolonije bakterij sorodnih SGB, med katerimi so lahko streptokoki

drugih vrst ali celo nekateri enterokoki in stafilokoki. Izkušeni pregledovalec bo takšne nespecifične kolonije prepoznal že makroskopsko, vendar avtorji svetujejo previdnost in nadzorovanje identifikacije vseh obarvanih in sumljivih kolonij, če je le mogoče z uporabo metode masne spektrometrije MALDI-TOF (22).

Na trgu so dostopna številna tovrstna gojišča različnih proizvajalcev, med katerimi so: bioMérieux (ChomID Strepto B), Bio-Rad (StreptoB Select), Oxoid (Brilliance GBS) in druga. Če brise nacepimo neposredno nanje in jih inkubiramo en dan, dosežemo občutljivost okoli 85 % (77–96 %). Če brise najprej nacepimo v tekoče obogatitveno gojišče in nato na klasična kromogena gojišča, ki jih inkubiramo dodatna dva dneva, se občutljivost približa 100 % (93–100 %) (29–34). Seveda je pri tem potrebno poudariti, da občutljivost 100 % v tem primeru zrcali dejstvo, da se je ta metoda uporabljala kot zlati standard.

Drugi tip kromogenih gojišč (tip Granada) so gojišča, ki spodbujajo naravno tvorbo pigmenta pri večini sevov SGB. Ta lastnost je vezana na tvorbo hemolizinov, zato z uporabo teh gojišč ne zaznamo sevov bakterije NHNP. Tvorba pigmenta je izboljšana v anaerobnih pogojih (20). V primerjavi s klasičnimi kromogenimi gojišči je občutljivost gojišč tipa Granada pričakovano slabša in znaša po obogatitvi okoli 95 % (34). Tvorbo pigmenta izkoriščamo tudi pri nekaterih tekočih obogatitvenih gojiščih (Carrot bujon, Granada dvofazni bujon), vendar je njihova občutljivost slabša od ustaljenih tekočih gojišč. Njihovo popularnost pripisujemo predvsem visoki specifičnosti tvorbe oranžnega pigmenta in dejstvu, da obarvanih tekočih gojišč na podlagi tega ni potrebno dodatno precepljati in bakterij identificirati. Deklarirana občutljivost enega od registriranih tovrstnih tekočih gojišč (Strep B Carrot Broth) je 88 %. Neobarvana tekoča gojišča je treba dodatno precepiti in kultiviranje nadaljevati dodatnih 48 ur (35).

3.2.2 Molekularni testi

Uporaba molekularnih metod je močno spremenila diagnostično mikrobiologijo. Na področju ugotavljanja kolonizacije nosečnic s SGB so razvili številne molekularne teste, med katerimi je bilo v času priprave tega pregleda 12 takšnih, ki so bili registrirani pri amerškem Uradu za hrano in zdravila (*angl.* Food and Drug Administration, FDA) (pregledano 21.11.2020). Med njimi je 11 testov namenjenih dokazu SGB po predhodni obogatitvi, le en pa testiranju neposredno iz kužnine ob porodu (Tabela 1).

Dokaz SGB z molekularnimi testi po obogatitvi v

tekočem gojišču preko noči močno izboljša občutljivost in skrajša čas testiranja. S takšnim načinom testiranja odkrijemo v povprečju 20–40 % več koloniziranih nosečnic v primerjavi s standardno metodo, opisano v smernicah ameriškega Centra za nadzor in preprečevanje bolezni (*angl.* Centers for Disease Control and Prevention, CDC) (12,28,36–41). Takšno testiranje je tudi hitrejšo in ga lahko končamo v okviru 24 ur, torej 1–2 dni hitreje od standardne metode. Zaradi naštetega so nekateri mnenja, da je potrebno kombinacijo obogatitve in molekularne detekcije SGB upoštevati kot novi zlati standard za presejalno testiranje (22,41). Takšen način testiranja je bil potrjen tudi v slovenskem programu preprečevanja zgodnjih invazivnih okužb novorojenčkov, povzročenih s SGB. Na kratko, bris nožnice in zadnjika po sprejemu v laboratorij najprej nacepimo v obogatitvenem bujonu THBS za inkubiranje preko noči (16–18 ur). Naslednji dan iz bujona izvedemo dokaz SGB z enim od registriranih molekularnih testov po navodilih proizvajalca testa. Na trgu je vse več proizvajalcev komercialnih molekularnih testov za odkrivanje SGB, kar bo nedvomno znižalo cene in povečalo dostopnost takšnega načina testiranja (Tabela 1).

3.2.3 Antigenski testi

V preteklosti so razvili številne antigenske teste za dokazovanje antigenov SGB iz sečil in rotil, ki pa so se neodvisno od detekcijske metode (lateksna aglutinacija, encimsko imunski test, optični imunski test) izkazali za premalo občutljive, če se uporabi neposredno iz kužnine. Količina bakterij in s tem povezana količina antigenov je namreč pri kolonizaciji lahko zelo majhna. V primerjavi z obogateno kulturo je občutljivost antigen-skih testov 15–74 %, zato jih večina strokovnih združenj odsvetuje za ugotavljanje kolonizacije (12,22,42).

Zaradi visoke specifičnosti tovrstnih testov in njihove enostavne uporabe so predvsem v zadnjem času prisotni tudi poskusi, da se uporabijo antigenski testi po obogatitvi. Kot kaže, bi lahko postala takšna uporaba hitrih antigen-skih testov celo primerljiva z molekularnim odkrivanjem SGB po obogatitvi (43,44,45).

4 Odkrivanje kolonizacije med porodom

Razvoj hitrih in enostavnih molekularnih metod, pri katerih za izvedbo testa ne potrebujemo naprednega molekularnega laboratorija in izkušenega tehničnega osebja, je omogočil, da kolonizacijo pri nosečnici lahko odkrijemo tudi neposredno ob sprejemu v porodnišnico oz. ob začetku poroda. Tak način testiranja bi lahko

Tabela 1: Molekularni testi, ki so registrirani pri ameriškem Uradu za varno hrano in zdravila (*angl.* Food and Drug Administration, FDA).

Molekularni test	Leto registracije	Način testiranja	Metoda	Tarča (gen)	Občutljivost ¹ % (95 % I.Z.)	Specifičnost ¹ % (95 % I.Z.)
Xpert GBS*	2006	direktno	rtPCR	<i>cfb</i>	89 (83-93)	97 (95-98)
Xpert GBS LB	2012	po obogatitvi	rtPCR	<i>cfb</i>	99 (96-100)	92 (90-94)
BD Max GBS	2012	po obogatitvi	rtPCR	<i>cfb</i>	95 (90-98)	97 (95-98)
Alethia GBS	2012	po obogatitvi	LAMP	ND	99 (97-100)	93 (92-95)
AmpliVue GBS	2013	po obogatitvi	HDA	<i>atoB</i>	100 (97-100)	93 (91-94)
Aries GBS	2016	po obogatitvi	rtPCR	<i>cfb</i>	96 (91-98)	91 (89-94)
Great Basin Portrait GBS	2016	po obogatitvi	rtPCR	<i>cfb</i>	98 (93-99)	96 (94-98)
Solana GBS	2017	po obogatitvi	HDA	<i>atoB</i>	100 (98-100)	96 (94-97)
GenePOC GBS LB	2017	po obogatitvi	rtPCR	<i>cfb</i>	96 (92-98)	96 (94-97)
NeuMoDx GBS	2018	po obogatitvi	rtPCR	<i>pcsB</i>	97 (94-98)	96 (95-97)
Simplexa GBS	2018	po obogatitvi	rtPCR	<i>cfb</i>	97 (92-99)	96 (93-98)
Panther Fusion GBS	2020	po obogatitvi	rtPCR	<i>cfb,sip</i>	100 (98-100)	97 (95-98)

Legenda: rtPCR – *angl.* real-time polimerase chain reaction; LAMP – *angl.* loop-mediated isothermal amplification; HDA – *angl.* helicase-dependant amplification; ND – neznano; GBS – I. group B streptococcus.

¹ Občutljivost in specifičnost, kot sta navedeni v dokumentaciji FDA.

* Edini diagnostični test, ki je trenutno namenjen tudi direktnemu testiranju v času poroda in ima v primerjavi z ostalimi slabšo občutljivost.

izboljšal nekatere pomanjkljivosti testiranja pred porodom, in sicer: a) problem prezgodnjega poroda pred 35. tednom nosečnosti, b) problem občasne in prehodne kolonizacije, pri kateri se status nosečnice od testiranja do poroda lahko spremeni, c) problem logistike testiranja med 35. in 37. tednom nosečnosti, ki bi bil lahko težava predvsem v slabše razvitih državah, konec koncev pa, č) problem nepotrebne antibiotične profilakse pri nosečnicah, ki v času poroda niso dokazljivo kolonizirane s SGB (42).

Vendar ima testiranje ob porodu tudi nekatere pomanjkljivosti. Najprej! Obstoječi molekularni hitri testi so od odvzema kužnine do rezultata končani najhitreje 1–2 urah. V mnogih primerih to ni dovolj hitro za vse nosečnice, ki lahko rodijo, še preden bi bil test dokončan (46). Nato pa se je, v mnogih raziskavah pokazalo, da je občutljivost molekularnih testov brez predhodne obogatitve 10–20 % nižja od testov z obogateno kulturo (47–49). Na ta način bi z manj občutljivim testom lahko zgrešili kolonizirane nosečnice, ki zaradi tega ne bi prejele antibiotične profilakse. In končno! V večini

dosedanjih raziskav se je izkazalo, da nastopijo pri približno 10 % izvedenih testov tehnične težave, zaradi katerih bi bilo potrebno test ponoviti, pri čemer gre spet za problem časa. In nenazadnje! V času pisanja tega prispevka obstaja le en sam registriran test, ki se uporablja v ta namen (Xpert GBS).

Zaradi vsega tega pa testiranja med samim porodom zaenkrat ne priporoča nobeno strokovno združenje. Nasprotno, takšno testiranje izrecno odsvetuje Ameriško združenje za mikrobiologijo (*angl.* American Society for Microbiology, ASM), saj testiranje brez obogatitve ni dovolj občutljivo in ima nizko negativno napovedno vrednost (50). Kljub temu smo v zadnjem času priča posameznim pilotnim raziskavam, ki ugotavljajo tako prednosti kakor tudi slabosti testiranja kolonizacije ob samem porodu (51–53). Vsekakor je potrebno novosti na področju molekularne diagnostike, ki bi v prihodnosti lahko bile podlaga za testiranje ob porodu, redno spremljati in jih po možnosti v svojem okolju tudi preizkusiti.

5 Hipervirulentni klon SGB (serotip III, klonski kompleks 17)

Polisaharidna kapsula je najpomembnejši virulentni dejavnik SGB. Glede na kapsularni antigen, razdelimo SGB na 10 različnih serotipov (Ia, Ib, II-IX), ki se med seboj antigensko in strukturno razlikujejo (54). V Evropi so najpogostejši serotipi Ia, II, III in V, pri čemer večino invazivnih okužb povzroča serotip III (3). Uspešnosti kolonizacije in razvoj okužbe sta povezani tudi s prisotnostjo drugih virulentnih dejavnikov, med katerimi so zelo pomembne različne adhezivne molekule in strukture, ki omogočajo adhezijo bodisi na površino epitela (pili, HvgA) bodisi na molekule zunajceličnega matriksa (FbsA-C, Srr1-2, Lmb, ScbP in druge) (55).

SGB je v osnovi komenzalna bakterija. Zato je preseñetljivo, da na genomski ravni večina človeških kolonizacijskih in kliničnih izolatov pripada zgolj 5 klonskim kompleksom (CC) (CC-1, CC-12, CC-17, CC-19 in CC-23). Med njimi velja klonski kompleks CC-17 za hipervirulentnega, saj povzroča veliko večino (> 80 %) poznih invazivnih okužb in prevladuje med povzročitelji (50 %) zgodnjih invazivnih okužb. Večina sevov klona CC-17 pripada kapsularnemu serotipu III in ima genski zapis za hipervirulentni adhezin A (*hvgA*). HvgA prispeva k adheziji na epitelne celice črevesa, endotel žil in celice horoidnega pleteža v možganih (55).

Evolucijsko gledano velja za glavni dogodek pri izoblikovanju tako homogene populacijske strukture SGB začetek uporabe tetraciklina v medicini leta 1948 na eni in pridobitev gena za odpornost proti tetraciklinu (*tetM*)

na drugi strani (56). S tema dvema dogodkoma se je začela selekcija zelo omejenega števila klonov SGB, prilagojenih na človeka, ki so imeli zapis za odpornost proti tetraciklinu. Z njo pa sovpada tudi porast okužb zaradi SGB v 60. letih prejšnjega stoletja, med katerimi so tudi invazivne okužbe nosečnic in novorojenčkov. V številnih longitudinalnih študijah, ki spremljajo pojavnost invazivnih neonatalnih okužb na ravni klonov, ugotavljajo, da je prav zamenjava klonov znotraj populacije SGB, predvsem pa pojav in razsoj hipervirulentnega klona CC-17, razlog za zmanjšano učinkovitost preventivnih programov za preprečevanje sepse pri novorojenčkih (57).

V Sloveniji smo nedavno genomsko opredelili vse dostopne invazivne izolate SGB pri novorojenčkih in jih primerjali s kolonizacijskimi izolati. Pričakovano smo ugotovili, da izolati serotipa III, CC-17 prevladujejo med invazivnimi SGB (67 %) in med neinvazivnimi izolati (33 %). Njihova predominantnost je bila še posebej visoka pri poznih invazivnih okužbah (81 %) v primerjavi z zgodnjimi okužbami (48 %) (58).

Z mikrobiološkega stališča obstaja poleg klasične tipizacije, ki temelji na sekvenci dela genoma, tudi nekaj enostavnejših in hitrejših metod za določitev klona CC-17. Na eni strani je specifična prisotnost *hvgA* gena, ki jo lahko uporabljamo kot genetski in diagnostični označevalec okužbe s tem klonom (59). Na drugi strani pa se CC-17 od ostalih SGB razlikuje tudi v prisotnosti specifičnih vrhov pri masni spektrometriji MALDI-TOF, ki jo danes večinoma uporabljamo za prepoznavanje bakterij (60). Ali bi takšno določanje hipervirulentnega klona

Tabela 2: Načini mikrobiološkega testiranja za ugotavljanje kolonizacije nosečnic in njihove osnovne lastnosti. Povzeto po Rosa-Fraile M., et al., 2017 (22).

Tip testa	Trajanje	Relativna občutljivost ¹	Relativna specifičnost	Možnost antibiograma	Relativna cena ² (€)
Obogatena kultura*	48-72 h	90-95 %	90-100 %	Da	≈15-20
Molekularni (po obogatitvi)*	24 h	95-100 %	95-100 %	Pogojno [#]	≈50-60
Molekularni (direktno)**	1-2 h	85-95 %	95-100 %	Ne	≈45-55
Antigenski (direktno)	do 1 h	15-75 %	do 75 %	Ne	≈10

¹ V večini primerjalnih raziskav so za zlati standard upoštevali obogateno kulturo po metodi CDC (11). V raziskavah, ki so primerjale molekularni teste po obogatitvi so s takšnim testiranjem odkrili 20-40 % več koloniziranih nosečnic (glej besedilo).

² Navedene cene so orientacijske.

[#] Kadar sočasno izvajamo kombinacijo z direktnim nacepljanjem na kromogeno gojišče, lahko v večini primerov določimo tudi antibiogram.

* Primerni za testiranje pred porodom (35. do 37. teden nosečnosti).

** Primerni za testiranje med porodom. V večini raziskav je bilo takšno testiranje za okoli 10 % slabše občutljivo.

CC-17 lahko prispevalo k napovedni vrednosti kliničnega poteka bolezni, zaenkrat še težko rečemo, saj tovrstnih kliničnih podatki ni.

6 Zaključek

S sprejetjem programa presejanja za nosilstvo SGB pri nosečnicah smo v letu 2020 storili veliko za znižanje incidence zgodnjih invazivnih neonatalnih okužb s SGB, ki je trenutno v Sloveniji višja od nam primerljivih držav. Odločili smo se za uporabo trenutno najbolj občutljive diagnostične metodologije, tj. kombinacije obogatene kulture in molekularnega testiranja (Tabela 2). Na ta način smo združili prednosti obeh metod, dosegli višjo

občutljivost in možnost določanja odpornosti proti antibiotikom, in skrajšali čas do rezultata, višjo občutljivost in specifičnost testiranja pa omogočili z molekularnim testiranjem, toda le ob pravilnem odvzemu kužnine, to je z brisom nožnice in zadnjika hkrati. V prihodnosti bo potrebno univerzalno presejanje za kolonizacijo s SGB v nosečnosti vključiti v sistem predporodnega varstva v Sloveniji rutinsko, za kar bo treba zagotoviti sredstva ZZZS. Poskrbeti bo treba tudi za nadzor nad pravilnim in učinkovitim izvajanjem programa ter nadaljevati iskanje novih izboljšav.

Izjava o navzkrižju interesov

Avtorji nimamo navzkrižja interesov.

Literatura

- Liu L, Oza S, Hogan D, Perin J, Rudan I, Lawn JE, et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2000–13, with projections to inform post-2015 priorities: an updated systematic analysis. *Lancet*. 2015;385(9966):430–40. DOI: [10.1016/S0140-6736\(14\)61698-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61698-6) PMID: [25280870](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25280870/)
- Lučovnik M. Je napočil čas a uvedbo presejanja za kolonizacijo s streptokokom skupine B v slovensko predporodno varstvo? In: Trojner Bregar A, Lučovnik M. 18. Novakovi dnevi. Zbornik prispevkov. Maj 2017; Slovenj Gradec, Slovenija. V Ljubljani: Združenje za perinatalno medicino SZD; 2017.
- Edmond KM, Kortsalioudaki C, Scott S, Schrag SJ, Zaidi AK, Cousens S, et al. Group B streptococcal disease in infants aged younger than 3 months: systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2012;379(9815):547–56. DOI: [10.1016/S0140-6736\(11\)61651-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61651-6) PMID: [22226047](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22226047/)
- Lasič M, Lučovnik M, Pavčnik M, Kaparič T, Ciringner M, Krivec JL, et al. Invazivne okužbe novorojenčkov z bakterijo *Streptococcus agalactiae* v Sloveniji, 2003–2013. *Zdrav Vestn*. 2017;86(11–12):493–506.
- Ouchenir L, Renaud C, Khan S, Bitnun A, Boisvert AA, McDonald J, et al. The epidemiology, management, and outcomes of bacterial meningitis in infants. *Pediatrics*. 2017;140(1):e20170476. DOI: [10.1542/peds.2017-0476](https://doi.org/10.1542/peds.2017-0476) PMID: [28600447](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28600447/)
- Stoll BJ, Hansen NI, Sánchez PJ, Faix RG, Poindexter BB, Van Meurs KP, et al.; Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. Early onset neonatal sepsis: the burden of group B *Streptococcus* and *E. coli* disease continues. *Pediatrics*. 2011;127(5):817–26. DOI: [10.1542/peds.2010-2217](https://doi.org/10.1542/peds.2010-2217) PMID: [21518717](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21518717/)
- Fišer J, Špacapan S, Prinčič D, Frelih T. Odkrivanje kolonizacije nosečnic z bakterijo *Streptococcus agalactiae* v severnoprimerjski regiji. *Zdrav Vestn*. 2001;70:623–6.
- Lučovnik M, Tul Mandić N, Lozar Krivec J, Kolenc U, Jeverica S. Prevalenca kolonizacije z bakterijo *Streptococcus agalactiae* pri nosečnicah v Sloveniji v obdobju 2013–2014. *Zdrav Vestn*. 2016;85(7–8):393–400.
- Boyer KM, Gotoff SP. Prevention of early-onset neonatal group B *Streptococcal* disease with selective intrapartum chemoprophylaxis. *NEJM*. 1986;314(26):1665–9. DOI: [10.1056/NEJM198606263142603](https://doi.org/10.1056/NEJM198606263142603) PMID: [3520319](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3520319/)
- Fabjan Vodušek V, Cerar LK, Mole H, Šajina Stritar B, Pokorn M, Lučovnik M, et al. Antibiotično zdravljenje ob porodu – priporočila. *Zdrav Vestn*. 2019;88(1):93–102. DOI: [10.6016/ZdravVestn.2916](https://doi.org/10.6016/ZdravVestn.2916)
- Van Dyke MK, Phares CR, Lynfield R, Thomas AR, Arnold KE, Craig AS, et al. Evaluation of universal antenatal screening for group B streptococcus. *N Engl J Med*. 2009;360(25):2626–36. DOI: [10.1056/NEJMoa0806820](https://doi.org/10.1056/NEJMoa0806820) PMID: [19535801](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19535801/)
- Verani JR, McGee L, Schrag SJ; Division of Bacterial Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of Perinatal Group B *Streptococcal* Disease: Revised Guidelines from CDC, 2010. *MMWR Recomm Rep*. 2010;59(RR10):1–32. PMID: [21088663](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21088663/)
- Bliss SJ, Manning SD, Tallman P, Baker CJ, Pearlman MD, Marrs CF, et al. Group B *Streptococcus* colonization in male and nonpregnant female university students: a cross-sectional prevalence study. *Clin Infect Dis*. 2002;34(2):184–90. DOI: [10.1086/338258](https://doi.org/10.1086/338258) PMID: [11740706](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11740706/)
- Manning SD, Neighbors K, Tallman PA, Gillespie B, Marrs CF, Borchardt SM, et al. Prevalence of group B streptococcus colonization and potential for transmission by casual contact in healthy young men and women. *Clin Infect Dis*. 2004;39(3):380–8. DOI: [10.1086/422321](https://doi.org/10.1086/422321) PMID: [15307006](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15307006/)
- Manning SD, Tallman P, Baker CJ, Gillespie B, Marrs CF, Foxman B. Determinants of co-colonization with group B streptococcus among heterosexual college couples. *Epidemiology*. 2002;13(5):533–9. DOI: [10.1097/00001648-200209000-00008](https://doi.org/10.1097/00001648-200209000-00008) PMID: [12192222](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12192222/)
- Hansen SM, Uldbjerg N, Kilian M, Sørensen UB. Dynamics of *Streptococcus agalactiae* colonization in women during and after pregnancy and in their infants. *J Clin Microbiol*. 2004;42(1):83–9. DOI: [10.1128/JCM.42.1.83-89.2004](https://doi.org/10.1128/JCM.42.1.83-89.2004) PMID: [14715736](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14715736/)
- Regan JA, Klebanoff MA, Nugent RP, Eschenbach DA, Blackwelder WC, Lou Y, et al.; VIP Study Group. Colonization with group B streptococci in pregnancy and adverse outcome. *Am J Obstet Gynecol*. 1996;174(4):1354–60. DOI: [10.1016/S0002-9378\(96\)70684-1](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(96)70684-1) PMID: [8623869](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8623869/)
- Yancey MK, Schuchat A, Brown LK, Ventura VL, Markenson GR. The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting genital group B streptococcal colonization at delivery. *Obstet Gynecol*. 1996;88(5):811–5. DOI: [10.1016/0029-7844\(96\)00320-1](https://doi.org/10.1016/0029-7844(96)00320-1) PMID: [8885919](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8885919/)
- American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Obstetric Practice. Prevention of group B streptococcal early-onset disease in newborns: ACOG committee opinion, Number 797. Vol. 135. *Obstet Gynecol*. 2020;135:e51–72. DOI: [10.1097/AOG.0000000000003668](https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003668) PMID: [31977795](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31977795/)

20. Vovko P. Assessment of laboratory procedures for group B streptococci screening in pregnant women. *Zdrav Vestn.* 2007;76:33-9.
21. Six A, Firon A, Plainvert C, Caplain C, Bouaboud A, Touak G, et al. Molecular characterization of nonhemolytic and nonpigmented group B streptococci responsible for human invasive infections. *J Clin Microbiol.* 2016;54(1):75-82. DOI: [10.1128/JCM.02177-15](#) PMID: [26491182](#)
22. Rosa-Fraile M, Spellerberg B. Reliable Detection of group B Streptococcus in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol.* 2017;55(9):2590-8. DOI: [10.1128/JCM.00582-17](#) PMID: [28659318](#)
23. Platt MW, McLaughlin JC, Gilson GJ, Wellhoner MF, Nims LJ. Increased recovery of group B Streptococcus by the inclusion of rectal culturing and enrichment. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1995;21(2):65-8. DOI: [10.1016/0732-8893\(95\)00022-3](#) PMID: [7628194](#)
24. Badri MS, Zawaneh S, Cruz AC, Mantilla G, Baer H, Spellacy WN, et al. Rectal colonization with group B streptococcus: relation to vaginal colonization of pregnant women. *J Infect Dis.* 1977;135(2):308-12. DOI: [10.1093/infdis/135.2.308](#) PMID: [320278](#)
25. Boyer KM, Gadzala CA, Kelly PD, Burd LI, Gotoff SP. Selective intrapartum chemoprophylaxis of neonatal group B streptococcal early-onset disease. II. Predictive value of prenatal cultures. *J Infect Dis.* 1983;148(5):802-9. DOI: [10.1093/infdis/148.5.802](#) PMID: [6355317](#)
26. Buchan BW, Olson WJ, Mackey TL, Ledebore NA. Clinical evaluation of the walk-away specimen processor and ESwab for recovery of Streptococcus agalactiae isolates in prenatal screening specimens. *J Clin Microbiol.* 2014;52(6):2166-8. DOI: [10.1128/JCM.00374-14](#) PMID: [24622104](#)
27. Orenge S, James AL, Manafi M, Perry JD, Pincus DH. Enzymatic substrates in microbiology. *J Microbiol Methods.* 2009;79(2):139-55. DOI: [10.1016/j.mimet.2009.08.001](#) PMID: [19679151](#)
28. Church DL, Baxter H, Lloyd T, Larios O, Gregson DB. Evaluation of StrepB select chromagar and the ast Track Diagnostics group B Streptococcus (GBS) real-time polymerase chain reaction assay compared to routine culture for detection of GBS during antepartum screening. *J Clin Microbiol.* 2017;55(7):2137-42. DOI: [10.1128/JCM.00043-17](#) PMID: [28446575](#)
29. Craven RR, Weber CJ, Jennemann RA, Dunne WM. Evaluation of a chromogenic agar for detection of group B streptococcus in pregnant women. *J Clin Microbiol.* 2010;48(9):3370-1. DOI: [10.1128/JCM.00221-10](#) PMID: [20592154](#)
30. Louie L, Kotowich L, Meaney H, Vearncombe M, Simor AE. Evaluation of a new chromogenic medium (StrepB select) for detection of group B Streptococcus from vaginal-rectal specimens. *J Clin Microbiol.* 2010;48(12):4602-3. DOI: [10.1128/JCM.01168-10](#) PMID: [20962144](#)
31. Morita T, Feng D, Kamio Y, Kanno I, Somaya T, Imai K, et al. Evaluation of chromID strepto B as a screening media for Streptococcus agalactiae. *BMC Infect Dis.* 2014;14(1):46. DOI: [10.1186/1471-2334-14-46](#) PMID: [24479795](#)
32. Poisson DM, Chandemerle M, Guinard J, Evrard ML, Naydenova D, Mesnard L. Evaluation of CHROMagar StrepB: a new chromogenic agar medium for aerobic detection of Group B Streptococci in perinatal samples. *J Microbiol Methods.* 2010;82(3):238-42. DOI: [10.1016/j.mimet.2010.06.008](#) PMID: [20600363](#)
33. Salem N, Anderson JJ. Evaluation of four chromogenic media for the isolation of Group B Streptococcus from vaginal specimens in pregnant women. *Pathology.* 2015;47(6):580-2. DOI: [10.1097/PAT.0000000000000299](#) PMID: [26308132](#)
34. Verhoeven PO, Noyel P, Bonneau J, Carricajo A, Fonsale N, Ros A, et al. Evaluation of the new brilliance GBS chromogenic medium for screening of Streptococcus agalactiae vaginal colonization in pregnant women. *J Clin Microbiol.* 2014;52(3):991-3. DOI: [10.1128/JCM.02926-13](#) PMID: [24403300](#)
35. Block T, Munson E, Culver A, Vaughan K, Hryciuk JE. Comparison of carrot broth- and selective Todd-Hewitt broth-enhanced PCR protocols for real-time detection of Streptococcus agalactiae in prenatal vaginal/anorectal specimens. *J Clin Microbiol.* 2008;46(11):3615-20. DOI: [10.1128/JCM.01262-08](#) PMID: [18799703](#)
36. El Aila NA, Tency I, Claeys G, Verstraelen H, Deschaght P, Decat E, et al. Comparison of culture with two different qPCR assays for detection of rectovaginal carriage of Streptococcus agalactiae (group B streptococci) in pregnant women. *Res Microbiol.* 2011;162(5):499-505. DOI: [10.1016/j.resmic.2011.04.001](#) PMID: [21514378](#)
37. Couturier BA, Weight T, Elmer H, Schlaberg R. Antepartum screening for group B Streptococcus by three FDA-cleared molecular tests and effect of shortened enrichment culture on molecular detection rates. *J Clin Microbiol.* 2014;52(9):3429-32. DOI: [10.1128/JCM.01081-14](#) PMID: [25009049](#)
38. Hernandez DR, Wolk DM, Walker KL, Young S, Dunn R, Dunbar SA, et al. Multicenter diagnostic accuracy evaluation of the LuminexAries real-time PCR assay for group B Streptococcus detection in lim broth-enriched samples. *J Clin Microbiol.* 2018;56(8):1-9. DOI: [10.1128/JCM.01768-17](#) PMID: [29848562](#)
39. Jeverica S, Kotnik E, Lučovnik M, Tul Mandić N. Ugotavljanje nosilstva bakterije Streptococcus agalactiae v nosečnosti – ali moramo v diagnostiki narediti naslednji korak? *Zdrav Vestn.* 2016;85:15-23.
40. Miller SA, Deak E, Humphries R. Comparison of the AmpliVue, BD MAX System, and Illumigene molecular assays for the detection of group B Streptococcus in antenatal screening specimens. *J Clin Microbiol.* 2015;53(6):1938-41. DOI: [10.1128/JCM.00261-15](#) PMID: [25788551](#)
41. Shin JH, Pride DT. Comparison of three nucleic acid amplification tests and culture for detection of group B Streptococcus from enrichment broth. *J Clin Microbiol.* 2019;57(6):e01958-18. DOI: [10.1128/JCM.01958-18](#) PMID: [30944190](#)
42. Di Renzo GC, Melin P, Berardi A, Blennow M, Carbonell-Estrany X, Donzelli GP, et al. Intrapartum GBS screening and antibiotic prophylaxis: a European consensus conference. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015;28(7):766-82. DOI: [10.3109/14767058.2014.934804](#) PMID: [25162923](#)
43. El Shahaway AA, El Maghraby HM, Mohammed HA, Abd Elhady RR, Abdelrhman AA. Diagnostic performance of direct latex agglutination, post-enrichment latex agglutination and culture methods in screening of group B streptococci in late pregnancy: a comparative study. *Infect Drug Resist.* 2019;12:2583-8. DOI: [10.2147/IDR.S203543](#) PMID: [31692504](#)
44. Takayama Y, Matsui H, Adachi Y, Nihonyanagi S, Wada T, Mochizuki J, et al. Detection of Streptococcus agalactiae by immunochromatography with group B streptococcus-specific surface immunogenic protein in pregnant women. *J Infect Chemother.* 2017;23(10):678-82. DOI: [10.1016/j.jiac.2017.07.001](#) PMID: [28779876](#)
45. Park CJ, Vandel NM, Ruprai DK, Martin EA, Gates KM, Coker D. Detection of group B streptococcal colonization in pregnant women using direct latex agglutination testing of selective broth. *J Clin Microbiol.* 2001;39(1):408-9. DOI: [10.1128/JCM.39.1.408-409.2001](#) PMID: [11191227](#)
46. Subramaniam A, Blanchard CT, Ngeek ES, Mbah R, Welty E, Welty T, et al.; Cameroon Health Initiative. Prevalence of group B streptococcus anogenital colonization and feasibility of an intrapartum screening and antibiotic prophylaxis protocol in Cameroon, Africa. *Int J Gynaecol Obstet.* 2019;146(2):238-43. DOI: [10.1002/ijgo.12870](#) PMID: [31127871](#)
47. Furfaro LL, Chang BJ, Payne MS. Detection of group B Streptococcus during antenatal screening in Western Australia: a comparison of culture and molecular methods. *J Appl Microbiol.* 2019;127(2):598-604. DOI: [10.1111/jam.14331](#) PMID: [31120589](#)
48. Silbert S, Rocchetti TT, Gostnell A, Kubasek C, Widen R. Detection of group B Streptococcus directly from collected ESwab samples by use of the BD Max GBS assay. *J Clin Microbiol.* 2016;54(6):1660-3. DOI: [10.1128/JCM.00445-16](#) PMID: [27053670](#)
49. Virranmiemi M, Raudaskoski T, Haapsamo M, Kauppila J, Renko M, Peltola J, et al. The effect of screening-to-labor interval on the sensitivity of late-pregnancy culture in the prediction of group B streptococcus colonization at labor: A prospective multicenter cohort study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2019;98(4):494-9. DOI: [10.1111/aogs.13522](#) PMID: [30578547](#)

50. Filkins L, Hauser JR, Robinson-Dunn B, Tibbetts R, Boyanton BL, Revell P. American Society for Microbiology provides 2020 guidelines for detection and identification of group B streptococcus. *J Clin Microbiol*. 2020;59(1):e19-2. DOI: [10.1128/JCM.01230-20](https://doi.org/10.1128/JCM.01230-20) PMID: [33115849](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33115849/)
51. Helmig RB, Gertsen JB. Diagnostic accuracy of polymerase chain reaction for intrapartum detection of group B streptococcus colonization. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2017;96(9):1070-4. DOI: [10.1111/aogs.13169](https://doi.org/10.1111/aogs.13169) PMID: [28504863](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28504863/)
52. Picchiassi E, Coata G, Babucci G, Giardina I, Summa V, Tarquini F, et al. Intrapartum test for detection of Group B Streptococcus colonization during labor. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2018;31(24):3293-300. DOI: [10.1080/14767058.2017.1369041](https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1369041) PMID: [28817995](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28817995/)
53. Ramesh Babu S, McDermott R, Farooq I, Le Blanc D, Ferguson W, McCallion N, et al. Screening for group B Streptococcus (GBS) at labour onset using PCR: accuracy and potential impact - a pilot study. *J Obstet Gynaecol*. 2018;38(1):49-54. DOI: [10.1080/01443615.2017.1328490](https://doi.org/10.1080/01443615.2017.1328490) PMID: [28764569](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28764569/)
54. Furfaro LL, Chang BJ, Payne MS. Perinatal Streptococcus agalactiae epidemiology and surveillance targets. *Clin Microbiol Rev*. 2018;31(4):1-18. DOI: [10.1128/CMR.00049-18](https://doi.org/10.1128/CMR.00049-18) PMID: [30111577](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30111577/)
55. Shabayek S, Spellerberg B. Group B. Streptococcal colonization, molecular characteristics, and epidemiology. *Front Microbiol*. 2018;9:437. DOI: [10.3389/fmicb.2018.00437](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00437) PMID: [29593684](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29593684/)
56. Da Cunha V, Davies MR, Douarre PE, Rosinski-Chupin I, Margarit I, Spinali S, et al.; DEVANI Consortium. Streptococcus agalactiae clones infecting humans were selected and fixed through the extensive use of tetracycline. *Nat Commun*. 2014;5(1):4544. DOI: [10.1038/ncomms5544](https://doi.org/10.1038/ncomms5544) PMID: [25088811](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25088811/)
57. Bekker V, Bijlsma MW, van de Beek D, Kuijpers TW, van der Ende A. Incidence of invasive group B streptococcal disease and pathogen genotype distribution in newborn babies in the Netherlands over 25 years: a nationwide surveillance study. *Lancet Infect Dis*. 2014;14(11):1083-9. DOI: [10.1016/S1473-3099\(14\)70919-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70919-3) PMID: [25444407](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25444407/)
58. Perme T, Golparian D, Bombek Ihan M, Rojnik A, Lučovnik M, Kornhauser Cerar L, et al. Genomic and phenotypic characterisation of invasive neonatal and colonising group B Streptococcus isolates from Slovenia, 2001-2018. *BMC Infect Dis*. 2020;20(1):958. DOI: [10.1186/s12879-020-05599-y](https://doi.org/10.1186/s12879-020-05599-y) PMID: [33327946](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33327946/)
59. Lamy MC, Dramsi S, Billoët A, Réglier-Poupet H, Tazi A, Raymond J, et al. Rapid detection of the "highly virulent" group B Streptococcus ST-17 clone. *Microbes Infect*. 2006;8(7):1714-22. DOI: [10.1016/j.micinf.2006.02.008](https://doi.org/10.1016/j.micinf.2006.02.008) PMID: [16822689](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16822689/)
60. Lartigue MF, Kostrzewa M, Salloum M, Haguenoer E, Héry-Arnaud G, Domelier AS, et al. Rapid detection of "highly virulent" Group B Streptococcus ST-17 and emerging ST-1 clones by MALDI-TOF mass spectrometry. *J Microbiol Methods*. 2011;86(2):262-5. DOI: [10.1016/j.mimet.2011.05.017](https://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.05.017) PMID: [21663770](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21663770/)