

INFEZIONI NEONATALI DA STREPTOCOCCO DI GRUPPO B (GBS) IN PUGLIA, 2007-2009

Maria Teresa Montagna (a), Antonella Rella (a), Teresa Cuna (a), Danilea Loconsole (a), Giuseppina Caggiano (a), Luciano Clericò (b), Francesco Pascazio (b), Francesco Romano (b), Antonella Vimercati (c), Giuseppe Sambati (d), Osvaldo Montagna (e), AnnaMaria Laneve (c), Nicola Laforgia (c), Giuseppe Loverro (c), Luigi Selvaggi (c), Roberta Creti (f)

(a) Dipartimento di Scienze Biomediche e Oncologia Umana, Sezione di Igiene, Università degli Studi di Bari

(b) I Clinica Ostetrica e Ginecologica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Consorziale Policlinico, Bari

(c) Dipartimento di Ginecologia, Ostetricia e Neonatologia, Università degli Studi di Bari

(d) IV Clinica Ostetrica e Ginecologica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Consorziale Policlinico, Bari

(e) UO di Neonatologia e Terapia Intensiva Neonatale, Azienda Ospedaliero-Universitaria Consorziale Policlinico, Bari

(f) Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

Streptococcus agalactiae (GBS) è un comune costituente della flora microbica vaginale in grado di colonizzare il 20-30% delle donne in gravidanza, rendendole più suscettibili sia a infezioni del tratto urinario che a complicanze come endometriti e corioamniotiti (Yancey *et al.*, 1994; Winn *et al.*, 2007). È uno dei principali responsabili di malattie invasive nei neonati sia prematuri che a termine (Trijbels-Smeulders *et al.*, 2004; Phares *et al.*, 2008) e può determinare una significativa morbilità e mortalità durante il periodo perinatale (CDC, 2007). La colonizzazione dei nati da madre GBS positiva si verifica nel 50-70% dei casi in seguito a trasmissione verticale, per via ascendente o al momento del parto (Schuchat, 1995); nell'1-2% dei casi evolve in malattia (Baker & Edwards, 1990) quando gli anticorpi materni, ricevuti durante la gestazione, presentano un titolo basso o sono del tutto assenti (Edwards, 2008).

L'infezione neonatale può manifestarsi entro 24 ore dal parto o durante la prima settimana di vita (*Early Onset Disease*, EOD) con sepsi e/o polmonite; può anche manifestarsi tardivamente, dopo una settimana fino a tre mesi di vita (*Late Onset Disease*, LOD) con meningite (43%) e sepsi (36%) (Gray *et al.*, 2007). Se le manifestazioni compaiono dopo 90 giorni, l'infezione viene definita ultra tardiva [*Late-Late Onset Disease*, LLOD]. L'incidenza dei casi gravi di malattia (sepsi e/o meningite) risulta pari a 0,8 per mille nati vivi in Inghilterra (Heath *et al.*, 2004), 0,47 in Germania (Fluegge *et al.*, 2006) e 0,6 negli Stati Uniti (Zaleznik *et al.*, 2000). Per quanto riguarda la letalità, nelle infezioni precoci risulta pari al 20% tra i nati prematuri, al 30% tra i nati dopo un'età gestazionale inferiore a 33 settimane; nei nati a termine, invece, si riduce al 2-3% (Phares *et al.*, 2008). Le infezioni non mortali possono determinare gravi conseguenze, tra cui ritardo mentale, riduzione della vista e ipoacusia (Schrag *et al.*, 2000).

Poiché negli anni '90 l'incidenza delle infezioni neonatali invasive sostenute da *Streptococcus agalactiae* era di 2-3 casi ogni 1000 nati vivi (Schrag, Gorwitz *et al.*, 2002), il CDC di Atlanta nel 1996 ha istituito le prime Linee Guida sulla prevenzione della malattia, riviste nel 2002 e aggiornate nel 2010 (Verani *et al.*, 2010). Le Linee Guide comprendono due strategie di intervento: la *screening strategy* e la *risk factor strategy*.

Secondo la *screening strategy*, è importante effettuare un test di screening nelle donne in 35^a-37^a settimana di gestazione. Esso prevede la ricerca di *S. agalactiae* a livello vaginale e rettale; nel caso di riscontro positivo in una o entrambe le sedi, si suggerisce una profilassi antibiotica subito prima del parto.

La *risk factor strategy* propone la profilassi antibiotica in tutte le gestanti che presentano uno o più fattori di rischio per malattia neonatale: parto prematuro con età gestazionale inferiore a 37 settimane, rottura prolungata delle membrane (>18 ore), febbre durante il parto (>38,0 °C), corioamniotite, batteriuria da GBS, precedente figlio con infezione da GBS (Fluegge *et al.*, 2006). A tal proposito, è stato dimostrato che la possibilità di trasmettere un'infezione da GBS è più bassa tra le gestanti che presentano un fattore di rischio al momento del parto ma che sono negative all'esame colturale, rispetto alle donne che risultano colonizzate in 35^a-37^a settimana e che non hanno alcun fattore di rischio (Schrag, Gorwitz *et al.*, 2002).

L'introduzione delle Linee Guida, in particolar modo il ricorso ai test di screening per la ricerca di GBS nelle donne gravide piuttosto che alla profilassi in presenza di fattori di rischio, ha permesso di ridurre le infezioni neonatali *precoci* del 50% (Schrag, Zell *et al.*, 2002). Tuttavia, se da un lato questo è stato possibile mediante profilassi con ampicillina *intrapartum* portando l'incidenza delle EOD a un valore < 1 su 1000 nati vivi (CDC, 2002), dall'altro il numero delle infezioni *tardive* (meningite nel 30-50% dei casi) non ha subito sostanziali differenze, data l'assenza ad oggi di efficaci misure di prevenzione primaria (Schrag *et al.*, 2000).

In Italia, gli unici dati disponibili sull'incidenza della malattia neonatale da GBS riguardano l'Emilia Romagna (0,5 ogni 1000 nati vivi) (Berardi *et al.*, 2007). Nel nostro Paese, infatti, non esistono dati epidemiologici sulle infezioni da GBS, né sui sierotipi più spesso responsabili di malattia. Per questo motivo, il Ministero della Salute ha promosso uno studio coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) dal titolo "Valutazione delle infezioni neonatali precoci e tardive da streptococco di gruppo B (GBS) nel nostro Paese e dei sierotipi circolanti causa di malattia".

Lo studio ha ottenuto l'approvazione del Comitato Etico e la partecipazione delle gravide è stata su base volontaria, vincolata alla firma di un Consenso Informato. Lo scopo di questo progetto era quello di valutare:

1. la prevalenza in Italia delle donne gravide positive per GBS;
2. l'incidenza delle infezioni neonatali da GBS;
3. i sierotipi più frequenti, causa di infezione;
4. l'incidenza per area;
5. l'entità della sottotifica;
6. la possibilità di migliorare la capacità diagnostica negli ospedali.

Di seguito vengono riportati i risultati dello studio condotto in Puglia, presso l'Azienda Ospedaliero-Universitaria del Policlinico di Bari e coordinato dal Dipartimento di Scienze Biomediche e Oncologia Umana dell'Università degli Studi di Bari.

Materiali e metodi

Secondo il protocollo concordato con l'ISS, nel periodo 2007-2009 sono state arruolate 500 donne in 35^a-37^a settimana di gestazione. Per ognuna è stata compilata una scheda materno-neonatale contenente tutti i dati riguardanti la gravidanza, il parto, eventuali profilassi materne e terapie neonatali. Le informazioni venivano inserite in un database alloggiato in ISS.

Ogni partoriente è stata sottoposta a un prelievo in sede vaginale (a livello del terzo inferiore) e rettale per la ricerca di *Streptococcus agalactiae*. Quando la madre risultava GBS positiva, si attivava il follow-up del neonato, che veniva sottoposto a controlli microbiologici in sede auricolare, ombelicale, faringea, a prelievi di sangue per emocoltura e, su indicazione clinica, anche a liquorcoltura. In caso di positività anche in una sola sede, il bambino veniva monitorato nei tre mesi successivi alla nascita.

Le indagini microbiologiche sono state effettuate utilizzando terreni selettivi per *Streptococcus agalactiae* (Strepto B-chromagar e Todd-Hewitt broth, addizionato di acido nalidixico (15 µL/mL) e colistina (10 µL/mL). Dopo incubazione a 37°C per 24-48 h in atmosfera di CO₂ al 5%, la positività per GBS era data dalla crescita di colonie rosso-bruno che venivano identificate mediante Vitek2.

Gli stipti di GBS provenienti sia dalla madre che dal bambino sono stati conservati a -80 °C e successivamente inviati all'ISS per essere sierotipizzati.

Risultati

Le donne arruolate nello studio e sottoposte a screening microbiologico sono risultate di età compresa tra 15 e > 45 anni; le classi di età più raffigurante sono state 31-35 anni (46,4%), 36-40 anni (25,6%) e 26-30 anni (17,6%). *S. agalactiae* è stato isolato in 121 donne gravide (24,2%), per lo più appartenenti alla fascia di età 21-40 anni (Tabella 1): 71 (58,7%) erano colonizzate a livello vagino-rettale, 26 (21,5%) solo a livello rettale, 24 (19,8%) solo a livello vaginale (Figura 1). Di queste, 10 donne hanno presentato fattori di rischio per malattia neonatale: 4 hanno partorito prematuramente (3,3%), 4 hanno avuto la rottura prolungata delle membrane (3,3%), 2 hanno manifestato entrambi i fattori (1,65%). Secondo le indicazioni riportate nelle Linee Guida (CDC, 2002), le donne positive per GBS sono state sottoposte a profilassi antibiotica *intrapartum* con ampicillina, somministrando 2g ev almeno 4 ore prima del parto, quindi 1g ev ogni 4 ore fino al momento del parto.

Tabella 1. Donne arruolate e risultate positive per GBS, distinte per classi di età

Classi di età (anni)	Donne arruolate		Donne positive per GBS	
	N.	%	N.	%
15-20	7	1,4	2	28,6
21-25	28	5,6	10	35,7
26-30	88	17,6	26	29,5
31-35	232	46,4	41	17,7
36-40	128	25,6	37	29,0
41-45	15	3,0	5	33,3
>45	2	0,4	0	0
TOTALE	500	100,0	121	24,2

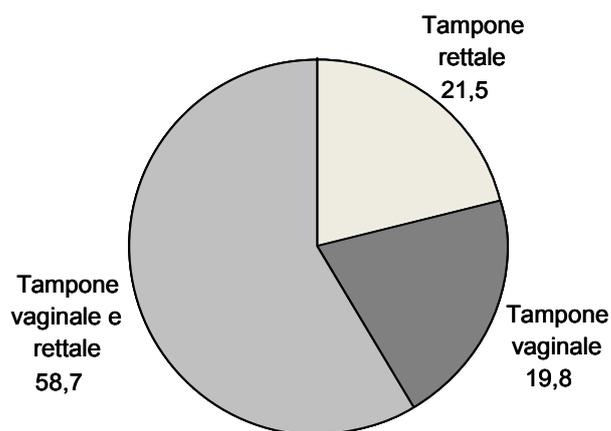


Figura 1. Distribuzione (%) delle sedi colonizzate da GBS in 121 gravide

Dei 121 bambini nati da madre GBS positiva, 76 sono stati sottoposti a indagini microbiologiche tramite emocolture e tamponi auricolare, faringeo e ombelicale. Non è stato possibile esaminare i restanti 45 neonati, poiché nati presso altre strutture ospedaliere. La presenza di GBS è stata rilevata in 10 neonati (13,2%): in 4 a livello auricolare (40%), in 2 a livello ombelicale (20%); nei restanti 4 bambini rispettivamente in sede auricolare/ombelicale (10%), auricolare/ombelicale/faringea (10%), a livello ematico/auricolare (10%), solo nel sangue (10%) (Figura 2). Tutti i neonati positivi per GBS sono stati monitorati nei 3 mesi successivi al parto fino alla completa scomparsa del microrganismo. I due bambini che hanno manifestato sepsi sono stati trattati con ampicillina (100mg/kg 2 volte al dì per 7 gg) e la loro guarigione è stata documentata a distanza di un mese da ripetute emocolture negative.

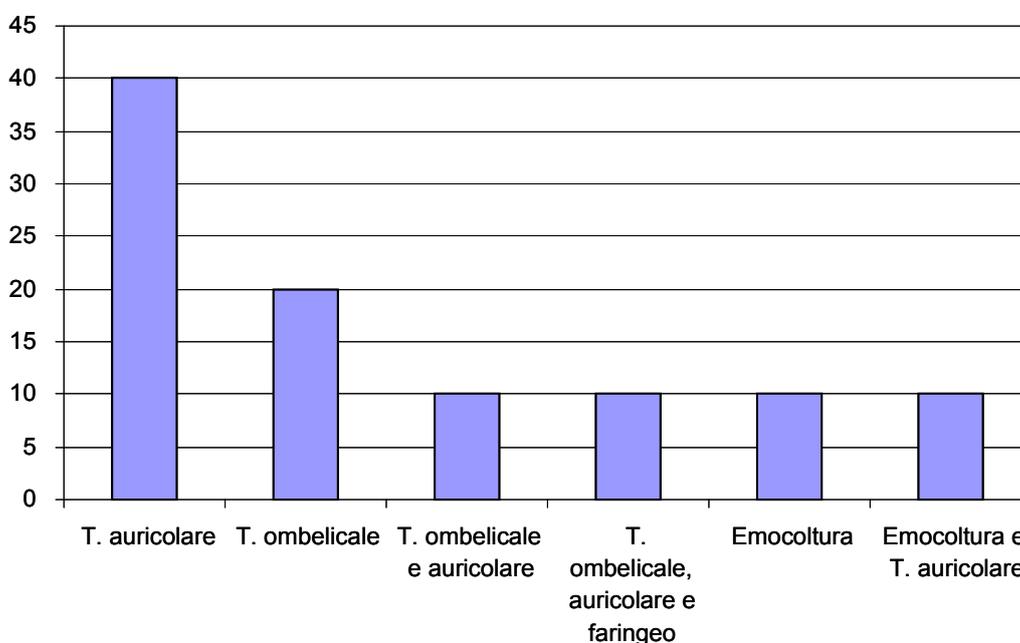


Figura 2. Distribuzione delle sedi colonizzate nei 10 neonati positivi per GBS

Gli stiptipi isolati da madre GBS positiva e quello provenienti dai due casi di sepsi neonatale sono stati sierotipizzati presso l'ISS di Roma. Il ceppo materno più frequente è risultato il sierotipo III (33%), seguito dal sierotipo V (17,3%), Ia (10,8%), II (8,3%), Ib (3,3%), IV (1,7%), IX (1,7%) e VII (0,8%); 28 ceppi sono risultati non tipizzabili con tecniche sierologiche (23,1%) (Figura 3).

Gli stiptipi isolati dai neonati di madre GBS positiva sono risultati appartenere allo stesso sierotipo della madre, di cui una era risultata positiva già in 35^a settimana e trattata con ampicillina; l'altra, inizialmente negativa allo screening, era risultata portatrice di GBS nei controlli effettuati dopo l'evento settico del bambino.

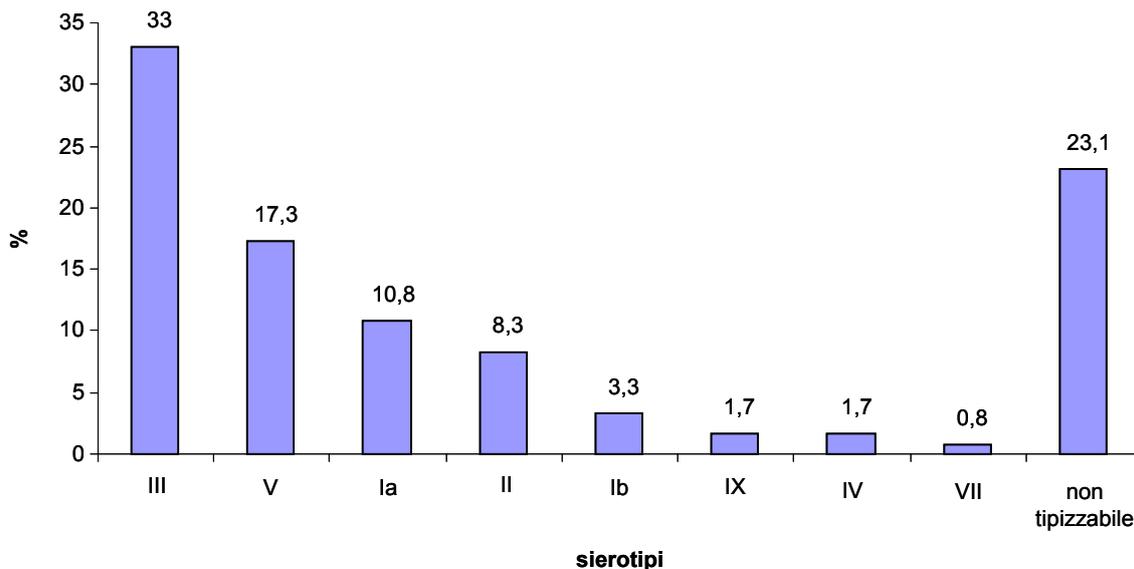


Figura 3. Distribuzione (%) dei sierotipi identificati nelle 121 donne positive per GBS

Discussione

Sino a pochi anni fa, in Italia i dati epidemiologici sulla colonizzazione da GBS tra le partorienti e sui casi di malattia neonatale erano limitati a poche aree (Berardi *et al.*, 2007) e certamente sottostimati, non solo per la scarsa attenzione attribuita alle complicazioni dovute a questo microrganismo ma anche ai controlli clinici e microbiologici non sempre adeguati. Uno dei grandi meriti di questo studio è stato quello di aver standardizzato i metodi di screening, le indagini di laboratorio e, soprattutto, le tecniche di prelievo in sede vaginale (per es. prediligendo il terzo inferiore anziché superiore e considerando anche la sede rettale). I dati di letteratura, infatti, mettono in evidenza quanto siano determinanti le modalità di prelievo e i test di laboratorio per valutare la reale diffusione delle gestanti portatrici di GBS, conoscere la distribuzione dei sierotipi colonizzanti e controllare le complicità infettive nel neonato. In tal modo si può ridurre la sottotifica dei casi di malattia neonatale e agire con appropriati interventi di prevenzione.

Dal nostro studio è emerso che il 24,2% delle gestanti esaminate in Puglia è colonizzata da GBS, dati in accordo con quanto riferito da altri Autori (Trijbels-Smeulders *et al.*, 2004). Il 20%

di queste donne ha trasmesso la colonizzazione ai neonati, tra questi il 2,6% ha sviluppato una sepsi che, grazie al protocollo di sorveglianza, è stato possibile gestire tempestivamente. Questi risultati mettono in evidenza l'importanza della profilassi antibiotica *intrapartum* per ridurre la trasmissione del microrganismo da madre a figlio. La *screening strategy*, infatti, sottolinea come sia fondamentale effettuare uno screening microbiologico nelle donne in 35-37^a settimana di gestazione sia per identificare i casi positivi per *S. agalactiae* che per programmare in tempo reale una profilassi antibiotica al momento del parto (IAP). È stato dimostrato che il controllo microbiologico non deve essere realizzato prima della 35^a settimana perché, potendo il batterio colonizzare in maniera intermittente il tratto vaginale, una negatività colturale non implica assenza assoluta del microrganismo, quindi non esclude una trasmissione al neonato né i rischi correlati (Schrage, Gorwitz *et al.*, 2002). Negli ultimi anni, è stato dimostrato che il ricorso alla IAP consente di prevenire gran parte delle infezioni neonatali e che, grazie ai progressi della Medicina nel campo della diagnostica e della terapia, la letalità delle EOD si è ridotta notevolmente, passando dal 50% al 4-6% (Baker *et al.*, 1974; Phares *et al.*, 2008). Ciò nonostante, non è possibile escludere del tutto casi gravi di sepsi, nonostante la terapia antibiotica materna *intrapartum* (Puopolo *et al.*, 2005; Pulver *et al.*, 2009); questo significa che la colonizzazione da GBS non può essere sottovalutata nelle partorienti e che l'attenzione del clinico deve essere sempre alta, soprattutto nei confronti di donne con precedenti già documentati.

La penicillina è l'antibiotico di scelta, l'ampicillina è un'ottima alternativa, mentre l'eritromicina viene di solito utilizzata in caso di allergia della madre al gruppo delle penicilline. Nel nostro caso, la sorveglianza microbiologica effettuata in gravidanza e le strategie farmacologiche adottate in caso di positività si sono dimostrate efficaci nel prevenire le complicanze neonatali da GBS. Inoltre, la somministrazione di ampicillina nei due bambini che hanno manifestato sepsi ha permesso la loro completa guarigione, scongiurando il pericolo di complicazioni indesiderate. È fondamentale, tuttavia, sottolineare l'importanza di approfondire la diffusione della farmaco resistenza tra questi microrganismi al fine di evitare interventi di profilassi non adeguati.

Per quanto riguarda la tipizzazione dei ceppi GBS isolati, il sierotipo III è risultato quello più frequente (33%), seguito dal sierotipo V (17,3%) e dal sierotipo Ia (11,6%). I nostri dati sono in accordo con quelli di altri Autori, secondo i quali i sierotipi III e V risultano predominanti tra le donne in gravidanza (El Aila *et al.*, 2009), tuttavia i sierotipi I, II e III sembrano essere più spesso associati a sepsi neonatale (Anderson-Berry *et al.*, 2008). In particolare, avanzate tecniche molecolari hanno permesso di stabilire che il sierotipo III è uno stipite tra i più aggressivi, spesso coinvolto nei casi di meningite e di LOD; inoltre, presenta diversi cloni caratterizzati da un differente grado di virulenza (Lin *et al.*, 2006).

L'obiettivo più auspicabile sarebbe la prevenzione primaria attraverso una vaccinoprofilassi mirata (Gomes *et al.*, 2008): questo consentirebbe un ottimo controllo anche delle LOD che oggi sfuggono alla diagnosi perché i pazienti spesso non sono sottoposti a un adeguato follow-up.

Bibliografia

- Anderson-Berry AL, Bellig LL. Neonatal sepsis. *Emedicine* 2008. Disponibile all'indirizzo: <http://emedicine.medscape.com/article/978352-overview#a0101>; ultima consultazione 12/05/2011.
- Baker CJ, Barrett FF. Group B streptococcal infections in infants. The importance of the various serotypes. *JAMA*. 1974; 230(8):1158-60.
- Baker CJ, Edwards MS. Group B streptococcal infections. In: Remington JS and Klein JO (Ed). *Infectious diseases of the fetus and the newborn infant*. WB Saunders Publications, Philadelphia, 1990; p.742-811.

- Berardi A, Lugli L, Baronciani D, Creti R, Rossi K, Ciccia M, Gambini L, Mariani S, Papa I, Serra L, Tridapalli E, Ferrari F and GBS prevention Working Group of Emilia Romagna. Group B streptococcal infections in a Northern Region of Italy. *Pediatrics* 2007;120:487-93.
- Centers for Disease Control and Prevention. Perinatal group B streptococcal disease after universal screening recommendations. United States, 2003-2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2007;56:701-5.
- Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: revised guidelines from CDC. *MMWR Recomm Rep* 2002;51(RR-11):1-22.
- Edwards MS. Group B streptococcal conjugate vaccine: a timely concept for which the time has come. *Hum Vaccin* 2008;4(6):444-8.
- El Aila NA, Tency I, Claeys G, Saerens B, De Backer E, Temmerman M, Verhelst R, Vanechoutte M. Genotyping of *Streptococcus agalactiae* (group B streptococci) isolated from vaginal and rectal swabs of women at 35-37 weeks of pregnancy. *BMC Infect Dis* 2009;9:153.
- Fluegge K, Siedler A, Heinrich B, Schulte-Moenting J, Moenning MJ, Bartels DB, Dammann O, von Kries R, Berner R and German Pediatric Surveillance Unit Study Group. Incidence and clinical presentation of invasive neonatal group B streptococcal infections in Germany. *Pediatrics* 2006;117:1139-45.
- Gomes MD, Scarselli M, Serino L, Mora M, Rappuoli R, Masignani V. Genome-based vaccine development. *Hum Vaccin* 2008;4(3):184-8.
- Gray KJ, Bennet SL, French N, Phiri AJ, Graham SM. Invasive group B streptococcal infection in infants, Malawi. *Emerg Infect Dis* 2007;13(2):223-9.
- Heath PT, Balfour G, Weisner AM, Efstratiou A, Lamagni TL, Tighe H, O'Connell LA, Cafferkey M, Verlander NQ, Nicoll A, McCartney AC and PHLS Group B Streptococcus Working Group. Group B streptococcal disease in UK and Irish infants younger than 90 days. *Lancet* 2004;363:292-4.
- Lin FY, Whiting A, Adderson E, Takahashi S, Dunn DM, Weiss R, Azimi PH, Philips JB 3rd, Weisman LE, Regan J, Clark P, Rhoads GG, Frasch CE, Troendle J, Moyer P, Bohnsack JF. Phylogenetic lineages of invasive and colonizing strains of serotype III group B Streptococci from neonates: a multicenter prospective study. *J Clin Microbiol* 2006;44(4):1257-61.
- Phares CR, Lynfield R, Farley MM, Mohle-Boetani J, Harrison LH, Petit S, Craig AS, Schaffner W, Zansky SM, Gershman K, Stefonek KR, Albanese BA, Zell ER, Schuchat A, Schrag SJ and Active Bacterial Core surveillance/Emerging Infections Program Network. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999-2005. *JAMA* 2008;299(17):2056-65.
- Pulver LS, Hopfenbeck MM, Young PC, Stoddard GJ, Korgenski K, Daly J, et al. Continued early onset group B streptococcal infections in the era of intrapartum prophylaxis. *J Perinatol* 2009;29:20-5.
- Puopolo KM, Madoff LC, Eichenwald EC. Early onset group B streptococcal disease in the era of maternal screening. *Pediatrics* 2005;115:1240-6.
- Schrag SJ, Gorwitz R, Fultz- Butts K, Schuchat A. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. *MMWR Recomm and Report* 2002;51:2-18.
- Schrag SJ, Zell ER, Lynfield R, Roome A, Arnold KE, Craig AS, et al. A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates. *N Engl J Med* 2002;347:233-9.
- Schrag SJ, Zywicki S, Farley MM, Reingold AL, Harrison LH, Lefkowitz LB, Hadler JL, Danila R, Cieslak PR, Schuchat A. Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *N Engl J Me.* 2000;342:15-20.
- Schuchat A. Group B streptococcal disease in newborns: a global perspective on prevention. *Biomed Pharmacother* 1995;49(1):19-25.

- Trijbels-Smeulders MA, Kollè LA, Adriaanse AH, Kimpen JL, Gerards LJ. Neonatal group B streptococcal infections: incidence and strategies for prevention in Europe. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23 (2):172-3.
- Verani JR, McGee L, Schrag SJ. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR Recomm and Report* 2010; 19:59(RR-10):1-36.
- Winn HN. Group B streptococcus infection in pregnancy. *Clin Perinatol* 2007;34(3):387-92.
- Yancey MK, Duff P, Clark P, Kurtzer T, Frentzen BH, Kubilis P. Peripartum infection associated with vaginal group B streptococcal colonization. *Obstet Gynecol* 1994;84(5):816-9.
- Zaleznik DF, Rench MA, Hillier S, Krohn MA, Platt R, Lee ML, Flores AE, Ferrieri P, Baker CJ. Invasive disease due to group B Streptococcus in pregnant women and neonates from diverse population groups. *Clin Infect Dis* 2000;30(2):276-81.