Микробиологический мониторинг беременных на носительство стрептококка группы В: разработка стандартных операционных процедур для практического применения.

С.М. Розанова[1,2], Е.Ю. Перевалова[1], М.В. Кырф[1], Л.В. Шевелева[1], Я.Б.Бейкин[1,2]

МАУ «Клинико-диагностический Центр», Екатеринбург
Институт иммунологии и физиологии УрО РАН», Екатеринбург

Введение. ***S. agalacticae*** (стрептококк группы В, СГВ) является одной из основных причин неонатальных инфекций в развитых странах мира. СГВ играет ведущую роль в этиологии внутриутробного сепсиса, пневмоний и менингитов новорожденных. Проведенные в 80-х годах в США, исследования показали, что колонизация беременной женщины СГВ в 25 раз повышает риск инфицирования новорожденного, что при отсутствии антибиотикопрофилактики ведет к развитию ранней неонатальной инфекции (РНИ) у 1-2% новорожденных. Частота колонизации беременных составляет от 10% до 30%, при этом первичным резервуаром служит гастроинтестинальный тракт. Выделение культуры СГВ из мочи в любом сроке беременности свидетельствует о массивной колонизации матери и фактором высокого риска развития РНИ [1,2,3].

Впервые руководство по профилактике СГВ-инфекции у новорожденных было опубликовано Центром по контролю и профилактике заболеваний США (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) в 1996г. и предусматривало интранатальную антибиотикопрофилактику у женщин высокой группы риска. Проведенные мероприятия позволили снизить число случаев СГВ-инфекций с 1,8 до 0,49 на 1000 новорожденных. При пересмотре Руководства в 2002г. был добавлен обязательный микробиологический скрининг на носительство СГВ всех женщин на 35-37нед., что привело к сокращению инфицирования СГВ до 0,33 на 1000 новорожденных. В связи с тем, что СГВ-инфекция продолжает оставаться ведущей причиной заболеваемости и смертности среди новорожденных в США в 2010г. рекомендации были пересмотрены и дополнены, в том числе с учетом новых возможностей лабораторной диагностики – применение молекулярно-биологических методов диагностики для проведения экспресс-анализа (Таблица 1) [3].

Цель исследования: разработка стандартных операционных процедур проведения профилактического микробиологического обследования беременных на носительство СГВ.

Материалы и методы. Пилотный проект профилактического обследования беременных проводился в г. Екатеринбурге в 2013г.-2014г.г., при разработке схемы использованы рекомендации CDC [2]. На реализацию программы затрачено 960 000 рублей, выделенных из городского бюджета. Скрининговое обследование выполнено для 2729 беременных женщин, наблюдавшихся в консультативно–поликлиническом отделении Городского перинатального центра г.Екатеринбурга. Лабораторные исследования выполнены на базе МАУ «Клинико – диагностический центр» г. Екатеринбурга и включали:

1). *анализ мочи на бактериурию на 15-17 неделе* гестационного периода (2654 чел.). Для отбора проб и транспортировки использовали систему UriSWAB (Copan Innovation, Италия), первичный посев осуществляли на хромогенную среду для выделения уропатогенов (BioRad, США) с последующей идентификацией изолятов на микробиологическом анализаторе WalkAway (Siemens, США).

2). *исследование вагинально-ректальных мазков для выявления колонизации СГВ на 35-37 неделе гестационного периода* (2013г.- 1132 чел., 2014г.- 2614 чел.). Материал отбирали в транспортные системы с бульоном LimBroth (Copan Innovation, Италия), после предварительной инкубации (35^0 С -16-18ч) высевали на пластинчатые среды: в 2013г. применяли неселективную среду 5% кровяно-дрожжевой агар, в 2014г. - хромогенную среду для выделения стрептококков группы В (CHROMagar StrepB, DRG, Франция). В качестве подтверждающего теста проводили латекс-агглютинацию с диагностическими сыворотками (Slidex Strepto B, BioMerieux, Франция).

В качестве *группы сравнения* использованы результаты микробиологического исследования отделяемого влагалища 2585 беременных, выполненные по классическим методикам (посев на 5% кровяно-дрожжевой агар, шоколадный агар и среду Сабуро).

3). *экспресс-тест вагинальных мазков методом ПЦР в реальном времени (*Cepheid GeneXpert Dx (Sage. США) осуществляли для рожениц при неизвестном СГВ-статусе и отягощенном акушерском анамнезе (роды в сроке менее 37 недель гестации, безводный период более 18 ч, лихорадка в родах ≥38ºС). Исследование выполнено для 16 чел.

Результаты исследований: Апробация и внедрение методики микробиологического скрининга беременных позволило провести сравнительный анализ нескольких методов выделения СГВ. При использовании рутинного исследования процент положительных проб составил 2,2%, что соответствовало данным многолетних наблюдений лаборатории (Рис. 1). После внедрения в 2013г. рекомендаций CDC и использовании специальных транспортных систем процент положительных проб составил 6,3%, а применение для первичного посева хромогенных сред позволило увеличить высеваемость более чем в два раза (13,2%, $p < 0,01$).

При обследовании беременных женщин бактериурия (выделение бактерий в значимом титре $\geq 10^5$ КОЕ/мл) отмечена в 2,8% случаев, из 76 выделенных культур 46 принадлежали к виду *E.coli.* Стрептококк группы В определен в 21 случае, из них в 6 случаях – в высоком титре ($>10^5$ КОЕ/мл). В соответствии с рекомендациями CDC выделение СГВ из мочи является прогностическим критерием внутриутробного заражения: при титре $<10^4$ КОЕ/мл - данные за вагинально-ректальную колонизацию, при титре $\geq 10^5$ КОЕ/мл имеется повышенный риск развития ранней СГВ инфекции у новорожденных. Так как данное исследование выполняют на 15-17 нед. гестационного периода есть возможность проведения антибиотикопрофилактики на ранних сроках беременности.

Результаты экспресс-тест вагинальных мазков методом ПЦР у рожениц дали положительный результат в 4 случаях из 16.

Заключение.

Применение технологий позволяет значительно повысить выявляемость носителей среди беременных: высеваемость СГВ составила 13,2% против 2,2% при использовании рутинных методик.

В ходе пилотного проекта профилактического обследования беременных на носительство СГВ были разработаны и внедрены стандартные операционные процедуры микробиологического скрининга и предложен алгоритм обследования (рис.2).

Таблица 1. Показания для назначения антибиотиков в родах

Назначение антибиотиков в родах показано	Назначение антибиотиков в родах не показано
Рождение предыдущего ребенка с СГВ-инфекцией	Колонизация СГВ в течение предыдущих беременностей
СГВ-бактериурия в любом сроке настоящей беременности	СГВ-бактериурия в течение предыдущей беременности
При неизвестном СГВ-статусе и отягощенном акушерском анамнезе: • **Роды в сроке менее 37 недель гестации** • **Безводный период более 18 час.** • **Лихорадка в родах более 38^0 С** • **Исследование в родах на СГВ -положительный результат (метод ПЦР)**	Отрицательный результат вагинального скрининга в поздних сроках гестации вне зависимости от наличия факторов риска в родах
	Кесарево сечение, проведенное до начала родовой деятельности при целом плодном пузыре вне зависимости от колонизации СГВ или гестационного возраста

Рис.1. Высеваемость стрептококков группы В у беременных (%).

Рис. 2. Алгоритм «Профилактика ранней неонатальной СГВ-инфекции»

Литература.
1.David Kaufman, Karen D. Fairchild Clinical Microbiology of Bacterial and Fungal Sepsis in Very-Low-Birth-Weight Infants Clinical Microbiology Reviews. 2004;. 17 (3): 638-680.
2.Heath PT, et al.Group B streptococcal disease in infants: a case control study.Arch Dis Child. 2009; 94 (9): 674-80.
3.CDC. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease, Revised Guidelines from CDC, 2010, Recommendations and Reports MMWR 2010;59**(RR10). 1-32**