



T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

**ŞİŞLİ HAMİDİYE ETFAL SAğLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA
MERKEZİ**

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ

**GEBELERDE *Streptococcus agalactiae* (GRUP B STREPTOKOK)
KOLONİZASYONUNUN KÜLTÜR VE MOLEKÜLER YÖNTEMLER
İLE ARAŞTIRILMASI**

Dr. Bilge Mazlumoğlu

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2025



T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

**ŞİŞLİ HAMİDİYE ETEFAL SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA
MERKEZİ**

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ

**GEBELERDE *Streptococcus agalactiae* (GRUP B STREPTOKOK)
KOLONİZASYONUNUN KÜLTÜR VE MOLEKÜLER YÖNTEMLER
İLE ARAŞTIRILMASI**

Dr. Bilge Mazlumoğlu

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Elif Aktaş Sepetçi

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2025

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince kıymetli bilgi birikimi ve tecrübelerini paylaşarak bana yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. Elif Aktaş Sepetçi'ye,

Bilgi ve tecrübelerini paylaşarak uzmanlık eğitimimde emeği geçen değerli hocalarım; Prof Dr. Banu Bayraktar, Doç. Dr. Mehmet Emin Bulut ve Doç Dr. Ayşe Barış'a,

Tüm uzmanlık eğitimimde ve tez çalışmamın her aşamasında emeğini ve yardımlarını esirgemeyen Uzm. Dr. Leyla Genç'e,

Ayrıca katkı ve destekleriyle yanımda olan Uzm. Dr. Süleyman Pelit'e ve uzmanlık eğitimim süresince sağladıkları katkılardan dolayı Uzm. Dr. Murat Öcal ve Uzm. Dr. Hanife Tutan'a,

Tez sürecim boyunca yardımlarını esirgemeyen Uzm. Dr. Şule Birol İnce'ye,

Birlikte çalışmaktan her zaman keyif aldığım değerli asistan arkadaşlarıma ve tüm laboratuvar çalışma ekibine,

Hayatımın her döneminde sevgilerini ve sonsuz desteklerini hissettiğim kıymetli aileme ve daima yanımda olan ve beni destekleyen sevgili eşim Nasıf Mazlumoğlu'na çok teşekkür ederim.

Dr. Bilge Mazlumoğlu

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR	iv
TABLolar	v
ŞEKİLLER	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. STREPTOKOKLARIN YAPISAL VE METABOLİK ÖZELLİKLERİ	3
2.2. STREPTOKOKLARIN SINIFLANDIRILMASI	3
2.2.1. Hemoliz Özelliklerine Göre Sınıflandırma	3
2.2.2. Antijenik Yapılarına Göre Sınıflandırma.....	4
2.2.3. Biyokimyasal Özelliklerine Göre Sınıflandırma.....	4
2.2.4. Sherman Sınıflaması	5
2.2.5. 16S rRNA Sekans Analizine Göre Sınıflandırma	5
2.3. Streptococcus agalactiae	6
2.3.1. Tarihçe.....	6
2.3.2. Patogenez ve Virülans faktörleri	6
2.3.3. Kapsüler Serotipler.....	7
2.3.4. Hipervirülen ST-17 Klonu	7
2.4. GBS EPİDEMİYOLOJİSİ VE BULAŞMA	8
2.4.1. Maternal-Fetal Bulaşma	9
2.5. GBS ENFEKSİYONLARI	10
2.5.1. Yenidoğan Enfeksiyonları.....	11
2.5.2. Gebelikle İlişkili GBS Enfeksiyonları	11
2.5.3. Gebe Olmayan Yetişkinlerde GBS	12
2.6. LABORATUVAR TANI YÖNTEMLERİ	12
2.6.1. GBS Taraması İçin Laboratuvar Prosedürleri.....	12
2.7. TEDAVİ VE KORUNMA	15
2.7.1. İntrapartum Antibiyotik Profilaksisi	15
2.7.2. Aşı	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. HASTA GRUBU	17
3.1.1. Hasta Bilgilerinin Toplanması	17
3.1.2. Rektovajinal Örneklerin Toplanması	18
3.2. BAKTERİLERİN TANIMLANMASI VE DUYARLILIK TESTLERİ ..	20
3.2.1. Katalaz Testi.....	21
3.2.2. PYR (L-pirolidonil-β-naftilamid) Testi	21
3.2.3. Lateks Aglütinasyon Testi	21

3.2.4. İdentifikasyon ve Duyarlılık Testleri	22
3.3. MOLEKÜLER YÖNTEMLER İLE GBS ARAŞTIRILMASI.....	22
3.3.1. Ekstraksiyon İşlemi	22
3.3.2. qPCR Kit ile Amplifikasyon İşlemi	23
3.3.3. PZR Sonuçlarının Değerlendirilmesi	25
3.3.4. PZR (+) ve Kültür (-) Örnekler için “in-house” PZR Çalışılması	27
3.3.5. ST-17 Klonunun PZR ile Tespiti	28
3.4. İSTATİSTİK METODU.....	29
4. BULGULAR.....	30
4.1. DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİN TANIMLANMASI	30
4.2. KÜLTÜR VE MOLEKÜLER TEST SONUÇLARI.....	32
4.3. GBS KOLONİZASYONU VE KLİNİK ÖZELLİKLER	32
4.4. GBS KOLONİZASYONU VE SOSYODEMOGRAFİK ÖZELLİKLER	35
4.5. GBS İZOLATLARININ DUYARLILIK SONUÇLARI.....	37
4.6. GBS İZOLATLARININ ST-17 ANALİZ SONUÇLARI.....	38
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇ.....	45
KAYNAKLAR.....	46
ÖZGEÇMİŞ.....	<i>Error! Bookmark not defined.</i>
EKLER.....	<i>Error! Bookmark not defined.</i>

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACOG: American College of Obstetricians and Gynecologists, Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Birliği

ASM: American Society for Microbiology, Amerikan Mikrobiyoloji Derneği

BOS: Beyin Omurilik Sıvısı

CAMP: Christie-Atkins-Munch-Petersen

CO₂: Karbondioksit

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

GBS: *Streptococcus agalactiae*, Grup B streptokok

IAP: İntrapartum Antibiyotik Profilaksisi

MALDI-TOF MS: Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry, Matriks Aracılı Lazer Dezorpsiyon İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi

MLEE: Multi Lokus Enzim Elektroforezi

MLST: Multi Lokus Sekans Tiplendirmesi

NAAT: Nükleik Asit Amplifikasyon Testi

OKS: Oral Kontraseptif

PFGE: Pulsed-Field Jel Elektroforezi

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RİA: Rahim İçi Araç

ST-17: Sekans Tip 17

VKİ: Vücut Kitle İndeksi

TABLÖLAR

Tablo 1: Bio-Speedy GBS (Grup B Streptokok) qPCR Kit reaksiyon protokolü.....	25
Tablo 2: Örneklerin kültür ve direkt vNAT'tan PZR sonuçları.....	32
Tablo 3: Antibiyotik duyarlılık sonuçları.....	38

ŞEKİLLER

Şekil 1. Neonatal bir patojen olarak GBS'nin hastalık döngüsü	10
Şekil 2. A; Amies transport besiyeri B; vNAT transfer tüpü ve sürüntü çubuğu	18
Şekil 3: Kültür ve PZR için laboratuvar örnek akış şeması	19
Şekil 4: Lim Broth.....	20
Şekil 5: A; Koyun Kanlı Agar'da beta hemoliz B; Kromojenik agarda GBS	21
Şekil 6:: Zybiox EXM 3000 ile Nükleik asit Ekstraksiyonu	23
Şekil 7: Magnetic Induction Cycler (Mic) PCR cihazı	24
Şekil 8: Ekstraksiyonu tamamlanan örneklerin pipetlenmesi	25
Şekil 9: PZR ile elde edilen amplifikasyon eğrileri	26
Şekil 10: Sigmoida yazılımında sonuçların değerlendirilmesi	26
Şekil 11: <i>Streptococcus agalactiae</i> "in-house" PZR Jel Elektroforez görüntüsü.....	28
Şekil 12: ST-17 klonunun Jel Elektroforez görüntüsü.....	29
Şekil 13: Çalışmaya dahil edilen gebelerin yaşlara göre dağılımı	30
Şekil 14: Çalışmaya dahil edilen gebelerin Vücut Kitle İndeksi'ne göre dağılımı....	31
Şekil 15: Çalışmaya dahil edilen gebelerin gebelik sayısına göre dağılımı.....	31
Şekil 16: Yaş aralıklarına göre GBS sonuçlarının dağılımı	33
Şekil 17: Sigara içme durumuna göre GBS sonuçlarının dağılımı	34
Şekil 18: Son iki hafta içinde antibiyotik kullanımına göre GBS sonuçlarının dağılımı	34
Şekil 19: Ek hastalık durumuna göre GBS sonuçlarının dağılımı	35
Şekil 20: Eğitim düzeyine göre GBS sonuçlarının dağılımı	36
Şekil 21: Korunma yöntemine göre GBS sonuçlarının dağılımı	36
Şekil 22: Son 3 ay içindeki cinsel ilişki durumuna göre GBS sonuçlarının dağılımı	37
Şekil 23: D-test ile indüklenebilir klindamisin direnci pozitif bir GBS izolatu	38

GEBELERDE *Streptococcus agalactiae* (GRUP B STREPTOKOK) KOLONİZASYONUNUN KÜLTÜR VE MOLEKÜLER YÖNTEMLER İLE ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Amaç: *Streptococcus agalactiae* (GBS) yenidoğanda erken başlangıçlı sepsise neden olur ve GBS ile maternal kolonizasyon en önemli risk faktörüdür. Tüm gebelerin 36-37. gebelik haftaları arasında kolonizasyon açısından taranması ve GBS saptanması durumunda antibiyotik profilaksisinin başlanması yenidoğanda enfeksiyon oluşmasını önlemek açısından çok önemlidir. Bu çalışmada, 36 hafta ve üzeri gebelerde GBS kolonizasyon oranının belirlenmesi ve tarama için, kültür ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemleri arasındaki uyumun değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, kolonizasyonu etkileyebilecek olası risk faktörleri ve hipervirülan ST-17 klonunun varlığının araştırılması hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Hastanemize Mayıs-Aralık 2024 tarihleri arasında başvuran 36 hafta ve üzeri gebelerden alınan 365 rektovajinal örnek çalışmaya dahil edildi. Kültür ve PZR için her hastadan iki ayrı rektovajinal sürüntü örneği alındı. Kültür için alınan örnekler GBS için seçici zenginleştirici sıvı besiyeri olan Lim Broth'a ekildi, inkübasyonun ardından kanlı agar subkültürü yapıldı. Üreyen bakterilerin tanımlanması Streptokok gruplandırma kiti ve VITEK[®] MS ile gerçekleştirildi. Antibiyotik duyarlılık testleri Kirby Bauer disk difüzyon yöntemiyle yapıldı. PZR için vNAT'a alınan örnekler ekstraksiyon işlemi sonrasında Bio-Speedy GBS (Grup B Streptokok) qPCR kiti ile çalışıldı. Kültürde üreyen GBS izolatları hipervirülan ST-17 klonu varlığı açısından PZR ile araştırıldı. Ayrıca, demografik ve obstetrik bilgiler ile potansiyel risk faktörlerine dair sorular içeren bir anket uygulandı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Konvansiyonel kültür yöntemi ile gebelerin %12,3'ünde, PZR ile %15,3'ünde GBS saptandı. Cohen's Kappa analizi ile iki yöntem arasında "neredeyse

mükemmel” düzeyde bir uyum gözlemlendi. Tüm GBS izolatları penisiline duyarlı bulunurken, eritromisine %37,8 ve klindamisine %33,3 oranında direnç saptandı. İndüklenebilir klindamisin direnci %13,3 olarak bulundu. Moleküler analizle izolatların dördünün (%7) ST-17 klonuna ait olduğu tespit edildi. Risk faktörleri analizinde, son üç ayda 11–30 kez cinsel ilişki bildiren gebelerde GBS pozitiflik oranı anlamlı derecede yüksek bulundu.

Sonuç: Çalışmamızda, GBS kolonizasyonu, en az 48 saat gerektiren konvansiyonel kültür yöntemine kıyasla PZR yöntemiyle yaklaşık bir saat gibi çok daha kısa süre içinde tespit edilmiştir. İki yöntem arasında “neredeyse mükemmel” uyum saptanmış olup PZR yöntemi GBS taraması için kabul edilebilir bir alternatif olarak değerlendirilmiştir. GBS'nin yüksek prevalansı ve ST-17 gibi hipervirülan klonların dolaşımı, gebelerde taramanın önemini vurgulamaktadır. Tüm izolatların penisiline duyarlı olması profilakside bu antibiyotiğin hala etkinliğini koruduğunu gösterirken, eritromisin ve klindamisine artmış direnç oranları, bu ilaçların alternatif olarak kullanımında dikkatli olunması gerektiğini vurgulamaktadır. Bu çalışma, GBS taramasında moleküler yöntemlerin tanısal katkısını, ST-17 klonunun varlığını ve davranışsal risk faktörlerinin etkisini ortaya koymakta olup; elde edilen bulgular, tanı stratejilerinin geliştirilmesi ve epidemiyolojik izlem açısından önemli bir referans sunmaktadır.

Anahtar kelimeler: *Streptococcus agalactiae*, Grup B Streptokok, GBS, PZR, rektovajinal kolonizasyon, ST-17

INVESTIGATION OF *Streptococcus agalactiae* (GROUP B STREPTOCOCCUS) COLONISATION IN PREGNANT WOMEN BY CULTURE AND MOLECULAR METHODS

ABSTRACT

Aim: *Streptococcus agalactiae* (GBS) causes early-onset neonatal disease and maternal colonisation with GBS is the most important risk factor. Screening of all pregnant women between 36-37 weeks of gestation for colonisation and initiation of antibiotic prophylaxis if GBS is detected is very important to prevent infection in the newborn. In this study, we aimed to determine the rate of GBS colonisation in pregnant women at 36 weeks of gestation and older and to evaluate the concordance between conventional culture method and PCR methods for screening. We also aimed to investigate possible risk factors that may affect colonisation and the presence of hypervirulent ST-17 clone.

Materials and Methods: A total of 365 rectovaginal specimens obtained from pregnant women at 36 weeks of gestation and older who were admitted to our hospital between May and December 2024 were included in the study. Two separate rectovaginal swabs were taken from each patient for culture and PCR. The samples taken for culture were sown in Lim Broth, a selective enrichment liquid medium for GBS, and subcultured on blood agar after incubation. The grown bacteria were identified by Streptococcus grouping kit and VITEK® MS. Antibiotic susceptibility tests were performed by Kirby Bauer disc diffusion method. Samples taken to vNAT for PCR were analysed with Bio-Speedy GBS (Group B Streptococcus) qPCR kit after extraction. GBS isolates grown in culture were investigated by PCR for the presence of hypervirulent ST-17 clone. In addition, a questionnaire including demographic and obstetric information and questions about potential risk factors was applied. The data obtained were analysed statistically.

Results: GBS was detected in 12.3% of pregnant women by conventional culture method and 15.3% by PCR. Cohen's Kappa analysis showed “almost perfect”

agreement between the two methods. While all GBS isolates were susceptible to penicillin, 37.8% were resistant to erythromycin and 33.3% to clindamycin. Inducible clindamycin resistance was 13.3%. Molecular analysis revealed that four (7%) of the isolates belonged to ST-17 clone. In the risk factor analysis, the rate of GBS positivity was significantly higher in pregnant women who reported having sexual intercourse 11–30 times in the past three months.

Conclusion: In our study, GBS colonisation was detected in a much shorter time, approximately one hour, by PCR method compared to the conventional culture method, which requires at least 48 hours. The agreement between the two methods was ‘almost perfect’ and the PCR method was considered as an acceptable alternative for GBS screening. The high prevalence of GBS and the circulation of hypervirulent clones such as ST-17 emphasise the importance of screening in pregnant women. While the susceptibility of all isolates to penicillin indicates that this antibiotic is still effective in prophylaxis, the increased resistance rates to erythromycin and clindamycin emphasise the need for caution in the use of these drugs as alternatives. This study demonstrates the diagnostic contribution of molecular methods in GBS screening, the presence of ST-17 clone and the effect of behavioural risk factors; the findings obtained provide an important reference for the development of diagnostic strategies and epidemiological follow-up.

Keywords: *Streptococcus agalactiae*, GBS, Group B Streptococcus, PCR, rectovaginal colonisation, ST-17

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Streptococcus agalactiae (Grup B streptokok, GBS), sağlıklı kadınların gastrointestinal ve genitoüriner sistemlerinde normal mikrobiyotada bulunabilen bir bakteridir (1). GBS, özellikle gebelik döneminde maternal kolonizasyonla ilişkilendirilmekte olup, vertikal yolla yenidoğana geçerek ciddi perinatal enfeksiyonlara neden olabilmektedir (2). Yenidoğanda geç başlangıçlı sepsis ve menenjit vakalarında önemli bir neden olan GBS enfeksiyonları erken başlangıçlı sepsisin ise en yaygın nedenidir (3).

GBS, gebelerde alt genital sistem, plasenta veya amniyon kesesinin enfeksiyonu sonucu fetal ölüm, bakteriyemi, endometrit, koryoamniyonit, pnömoni, puerperal sepsis gibi enfeksiyonlara da neden olabilmektedir (4). Yenidoğanlarda invaziv GBS enfeksiyonu oluşması için annenin genitoüriner veya gastrointestinal sisteminin GBS ile kolonize olması birincil risk faktörüdür (1). Yaşamın ilk haftasındaki bebeklerin enfeksiyonu olarak tanımlanan erken başlangıçlı sepsisin önlenmesi amacıyla intrapartum antibiyotik profilaksisinin (IAP) verilebilmesi için gebelerin taranması önerilmektedir (3). Çalışmalar IAP'ın erken başlangıçlı sepsis görülme sıklığını azalttığını göstermiştir (2,5).

Son yıllarda GBS serotip III içerisinde bulunan ve "hipervirülan" özellikleriyle tanımlanan ST-17 klonu, neonatal invaziv GBS enfeksiyonlarından özellikle menenjit vakalarından yüksek oranda izole edilmiştir (6). Aynı zamanda ST-17 klonu, sahip olduğu özgün virülans özellikleri nedeniyle moleküler düzeyde tanımlanması gereken bir tip olmanın ötesinde, hedefe yönelik koruyucu stratejilerin geliştirilmesini zorunlu kılan ciddi bir halk sağlığı tehdidi olarak değerlendirilmektedir (7).

Tarama yöntemlerinin doğruluğu, hızı ve uygulanabilirliği neonatal enfeksiyonların önlenmesinde belirleyici olmaktadır. Günümüzde GBS taramasında kullanılmakta olan geleneksel kültür yöntemi; duyarlılık oranları, sonuç verme süresi ve örnek işlenmesi gibi bazı sınırlılıklar taşımaktadır. Moleküler yöntemler ile yapılan taramalar ise geleneksel kültür yöntemlerine göre sonuç verme süresi açısından daha avantajlıdır ancak duyarlılıkları değişkendir (8).

Bu alışma, gebelerde GBS kolonizasyon oranını belirlemenin yanı sıra, taramada hızlı sonuç veren PZR testi ile zenginleştirilmiş kültür yönteminin performanslarını karşılaştırarak iki yöntem arasındaki uyumu değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Bununla birlikte, uygulanan anket aracılığıyla GBS kolonizasyon sıklığını etkileyebilecek faktörlerin belirlenmesi ve neonatal enfeksiyon açısından yüksek risk taşıyan ST-17 klonu varlığının saptanması da çalışmanın hedefleri arasındadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. STREPTOKOKLARIN YAPISAL VE METABOLİK ÖZELLİKLERİ

Streptococcus cinsi, *Lactobacillales* takımında, *Streptococcaceae* ailesinde yer almakta ve 100'den fazla tür içermektedir (9). Streptokoklar sıvı besiyerinde zincir oluşturan, 2 µm'den küçük, Gram pozitif, katalaz negatif, fakültatif anaerobik bakterilerdir (9,10). Birçok tür normal hava koşullarında üreyebilse de çoğunlukla CO₂'li ortamda daha iyi üremektedir (10). Çoğu streptokok türü için optimum üreme sıcaklığı 37°C'dir (9). Glukoz ve diğer karbonhidratların fermentasyonunda son ürün olarak laktik asit oluştururlar. Sıvı besiyerine glukoz veya diğer karbonhidratların eklenmesi bakterilerin üremesini artırırken ortam pH'ının düşmesine neden olur. Bu durum, daha yüksek tampon kapasitesine sahip bir besiyeri olan Todd-Hewitt Broth kullanılarak önlenabilir (9).

Streptokokların hücre duvarı, diğer Gram pozitif bakterilerde olduğu gibi, glukozamin, muramik asit ve değişken bir bileşen olarak galaktozamin içeren bir peptidoglikan tabakadan meydana gelmektedir. Hücre duvarına bağlı karbonhidratlar, yüzey protein antijenleri ve teikoik asit, tür içi ve türler arası çeşitliliğe katkı sağlar (9).

2.2. STREPTOKOKLARIN SINIFLANDIRILMASI

Streptokoklar geniş ve çeşitlilik gösteren bir bakteri grubudur, sınıflandırılması karmaşık olduğundan tek bir sistem yeterli değildir. Taksonomik yapılarının anlaşılması streptokokların klinik öneminin belirlenmesinde yardımcı olmaktadır. Streptokokların sınıflandırılması; kanlı agardaki morfoloji ve hemolitik reaksiyonlar, serolojik özellikler, biyokimyasal testler, çevresel direnç ve ekolojik özelliklerine dayanarak yapılmaktadır (11).

2.2.1. Hemoliz Özelliklerine Göre Sınıflandırma

Streptokoklar in vitro olarak farklı seviyelerde hemoliz reaksiyonu gösterebilirler. Howard Brown 1919 yılında, streptokokları kanlı besiyerinde hemoliz tipine göre üç gruba ayırarak bu bakterilerin sınıflandırılmasında önemli

bir adım atmıştır (12). Bakteri kolonilerinin etrafında kanın tamamen eriyerek saydamlaşması ve eritrositlerin tamamen parçalanması β -hemoliz olarak adlandırılır. Hemoglobinin parçalanmasıyla birlikte yeşil pigment oluşumu ve eritrositlerin tam olmayan parçalanması ise α -hemoliz olarak tanımlanır. Bazı streptokok türleri ise hemoliz yapmaz ve bu durum γ -hemoliz olarak isimlendirilir (11,13).

2.2.2. Antijenik Yapılarına Göre Sınıflandırma

Streptokok türleri, hücre duvarında bulunan karbonhidrat antijenlerine göre serolojik olarak da sınıflandırılabilir. Rebecca Lancefield 1933 yılında, β -hemolitik streptokokların sınıflandırılmasında dönüm noktası olan Lancefield gruplama sistemini geliştirmiştir. Bu gruplama sisteminde hücre duvarında bulunan karbonhidrat antijenleri, hücre duvarı polisakkaritlerinden (Örn: grup A, B, C, F ve G streptokoklar) veya hücre duvarı lipoteikoik asitlerinden (grup D streptokoklar ve Enterococcus türleri) oluşabilir (10,14). Grup B antijeni, peptidoglikan tabakasına bağlı bir ramnoz-glukozamin polimeri ile yapılandırılmıştır (10).

Beta hemolitik streptokoklar genellikle Lancefield gruplarıyla (Örn: Grup B için *Streptococcus agalactiae*), diğer streptokoklar ise tür adıyla veya grup olarak adlandırılır (Örn: *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus anginosus* grup) (13).

2.2.3. Biyokimyasal Özelliklerine Göre Sınıflandırma

Biyokimyasal özellikler; karbonhidrat fermantasyonunu, çeşitli enzimlerin varlığına yönelik reaksiyonları, bazı kimyasallara karşı oluşan duyarlılık ve direnç testlerini kapsamaktadır. Lancefield sınıflandırmasındaki antijenik reaksiyonlarla sınıflandırılmayan non- β -hemolitik türlerin ayırımında kullanılırlar. Örneğin; viridans grubunun tanımlanması için bir dizi biyokimyasal test yapılması gerekir. Genellikle yoğun emek gerektirdiği ve beklenen kesinliği sunmadığı için gen dizilimi veya MALDI-TOF MS gibi yöntemler bu fenotipik testlerin yerini almıştır (11).

2.2.4. Sherman Sınıflaması

Sherman, 1937 yılında streptokokları hemoliz özellikleri, antijenik yapıları ve fenotipik özelliklerine dayanarak dört başlıkta toplamıştır.

Piyojenik streptokoklar: Tanımlanmış grup antijenlerine (A, B, C, E, F ve G) sahip β -hemolitik suşları içermektedir.

Viridans streptokoklar: β -hemolitik olmayan, bazik pH'a ve yüksek tuz konsantrasyonlarına dayanıksız, 10°C'de üreyemeyen streptokok türlerini içerir. Hala viridans streptokoklar olarak bilinmektedir.

Laktokoklar: 10°C'de üreyebilen ancak 45°C'de üreyemeyen bu grup β -hemoliz yapmamaktadır.

Enterokoklar: Bazıları β -hemolitik olmasına rağmen, yüksek pH'lı besiyerinde, yüksek tuz konsantrasyonlarında ve geniş bir sıcaklık aralığında (10 ila 45°C) üremesi gibi özellikleri bu grubu diğer üç gruptan ayırmaktadır.

Lactococcus ve *Enterococcus* cinsi 1980'lerin ortalarında *Streptococcus* cinsinden ayrı birer cins olarak yeniden sınıflandırılmıştır (15,16).

2.2.5. 16S rRNA Sekans Analizine Göre Sınıflandırma

Streptococcus sınıflandırma sistemi güncellenirken kullanılan en önemli yaklaşımlardan biri, 16S rRNA gen dizilimi yöntemidir (16). *Streptococcus* cinsi bakteriler filogenetik yakınlığına göre yedi gruba ayrılmıştır (10,17).

Grup 1: Piyojenik Grup (*S. pyogenes*, *S. agalactiae*)

Grup 2: Mitis/Sanguinis Grup (*S. mitis*, *S. oralis*, *S. pneumoniae*)

Grup 3: Mutans Grup

Grup 4: Salivarius Grup

Grup 5: Anginosus Grup

Grup 6: Bovis Grup

Grup 7: Miscellaneous Streptococci

2.3. *Streptococcus agalactiae*

2.3.1. Tarihçe

Nocard ve Mollereau, 1884 yılında yayınlanan süt ineklerinde bulaşıcı mastit etiyojisini araştırdıkları çalışmalarında ilk kez *S.agalactiae*'dan bahsetmişlerdir (18,19).

S. agalactiae 1933 yılında Rebecca Lancefield tarafından, süttten ve sığır mastiti olan ineklerden izole edilerek diğer streptokok türlerinden serolojik olarak ayırt edilmiş ve Grup B Streptokok (GBS) olarak isimlendirilmiştir (14,20).

Lancefield ve Hare 1935 yılında yayınladıkları bir makalede postpartum hafif ateşi olan veya asemptomatik kadınların vajinasında saprofit olarak GBS bulunabileceğini raporlamışlardır (21). 1938 yılında Fry, Londra'daki bir doğum hastanesinde, üç ölümcül postpartum enfeksiyon vakasıyla GBS'nin insanlarda ciddi hastalığa neden olabileceğini ortaya koymuştur (22).

Perinatal GBS enfeksiyonları, ilk kez 1960'lı yıllarda tanımlanmış ve o döneme kadar insanlarda nadiren karşılaşılan bir enfeksiyon olarak kayıtlara geçmiştir. Bu yıllarda yetişkinler ve yenidoğanlar arasında artan vakalarla birlikte invaziv GBS hastalığı daha sık rapor edilmeye başlanmış, 1970'lerden itibaren ise Amerika Birleşik Devletleri yanı sıra bazı gelişmiş ülkelerde yenidoğanlarda görülen mortalite ve morbiditenin başlıca sebeplerinden biri haline gelmiştir (2,19,20,23).

2.3.2. Patogenez ve Virülans faktörleri

Patojenik bakterilerin çoğunda olduğu gibi Grup B streptokoklarda da çeşitli virülans faktörleri kodlanmıştır.

Polisakkarit kapsül antijenleri: GBS enfeksiyonlarının patogenezinde en önemli virülans faktörü, konak savunmasından kaçmaya yardım eden siyalik asit açısından zengin olan kapsüldür. Siyalik asit, konak hücre yüzey molekülleri ile benzerlik gösterdiği için GBS'nin tanınmasını engelleyerek kompleman bağlanmasını önler. B grubu streptokoklar daima kapsüllüdür. Kapsüller; glukoz, galaktoz, N-asetilglukozamin ve N-asetil-nöraminik asit (siyalik asit) içerir. Serotipler, bu dört bileşiğin her bir kapsül tipi üzerindeki farklı düzenlemelerine göre belirlenir (10,20,24,25).

β -hemolizin/sitolizin (β -H/C): GBS'nin özellikle akciğer epitel-endotel hücreleri ve kan-beyin bariyeri olmak üzere konak hücre bariyerlerine invazyonunu teşvik eden, hastalık gelişmesinde önemli rol oynayan güçlü bir toksindir.

C5a peptidaz (*scpB*): C5a'nın nötrofil kemotaksisini engelleyerek bağışıklık yanıtını manipüle eder (10,20,24–27).

Diğer virülans faktörleri; piluslar, Christie-Atkins-Munch-Petersen (CAMP) faktörü, nöraminidaz, deoksiribonükleaz, hyalüronidaz ve serin proteazdır. Bazı GBS türlerinde CAMP faktörünün duyarlı hedef membranda gözenekler oluşturarak sitotoksik etki ile patogeneizde rol oynadığı gözlemlenmesine rağmen CAMP faktörü, proteazlar ve çeşitli nükleazlar gibi moleküllerin hastalık yapma sürecindeki rolü henüz net değildir (10,20,24–27).

Grup B streptokoklar kolonize olmak için çeşitli adezinler kullanır. Bunlar arasında; fibrinojen bağlayıcı proteinler (Fbs), hipervirülan GBS adezini (HvgA), laminin bağlayıcı protein (Lmb), C5a peptidaz, piluslar, plazminojen bağlayıcı yüzey proteini (PbsP), fibronektin bağlayıcı protein (SfbA) ve immünojenik bakteriyel adezin (BibA) yer alır (26).

2.3.3. Kapsüler Serotipler

Ia, Ib ve II-IX arasında olmak üzere toplamda on polisakkarit kapsül antijeni tanımlanmıştır (10). Serotipe özgü kapsüler polisakkaritlerin patogeneizde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (10,28). GBS serotiplerinin dağılımı enfeksiyonun erken ve geç başlangıçlı olmasına göre farklılıklar göstermektedir. Erken başlangıçlı menenjit gelişmeyen yenidoğanlarda Ic, II ve III serotipleri benzer oranda görülür (10). Baker ve Barrett yenidoğan enfeksiyonuna tüm GBS serotiplerinin neden olabileceğini ancak menenjitli bebeklerde kapsüler serotip III suşlarının daha yaygın olduğunu göstermişlerdir (19,29). Yetişkinlerde görülen GBS menenjiti ise genellikle serotip II ile ilişkili bulunmuştur (10).

2.3.4. Hipervirülan ST-17 Klonu

Serotip III GBS suşları, DNA ve protein yapılarındaki farklılıklara göre pulsed-field jel elektroforezi (PFGE), multi-lokus enzim elektroforezi (MLEE) ve multi-

lokus sekans tiplendirmesi (MLST) gibi çeşitli moleküler yöntemler kullanılarak farklı soylara ayrılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda neonatal invaziv hastalıkların büyük kısmının ve menenjitlerin çoğunun “yüksek derecede virülan” olarak adlandırılan serotip III suşunun ST-17 klonu olarak bilinen bir sekans tipi (ST) ile ilişkili olduğu doğrulanmıştır (30). Yüksek virülanslı bu GBS suşları, konağa bağlanmayı artırmak için daha gelişmiş adezinler üretir. Örneğin, çoğu GBS suşu, vajinal ve servikal epiteldeki fibrinojene bağlanmak için Ssr1 kullanırken, yenidoğan menenjitleriyle ilişkilendirilen ST-17 suşları Ssr2 adlı adezinleri kullanır. Ssr2, fibrinojene daha güçlü bağlanarak, plazmin ve plazminojeni bağlayarak daha invaziv bir özellik gösterir, ST-17 suşlarının periferik organlara yayılmasını kolaylaştırır ve vajinal florada rekabet avantajı sağlar. Bir diğer yüzey ilişkili adezin olan HvgA ise kan beyin bariyerindeki endotele yapışmayı artırır. Bu bağlanma mekanizmaları ST-17 suşlarını daha virülan hale getirir (26,31).

Moleküler epidemiyolojik veriler, ST-17'nin neonatal invaziv enfeksiyonların çoğunda baskın olduğunu ve birçok ülkede yaygınlığının artmakta olduğunu göstermektedir (7,30). ST-17 suşlarının aynı zamanda çoklu antibiyotik direnci gösterme eğiliminde olduğu ve bu durumun klinik yönetimi güçleştirebileceği bildirilmektedir. ST-17, yalnızca moleküler olarak ayırt edilmesi gereken bir tip değil, aynı zamanda hedefe yönelik koruyucu stratejiler açısından da kritik bir halk sağlığı tehdidi olarak değerlendirilmektedir (7).

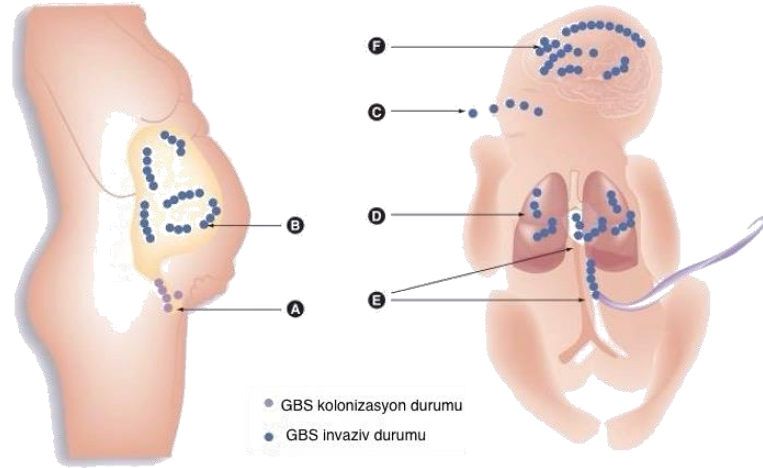
2.4. GBS EPİDEMİYOLOJİSİ VE BULAŞMA

GBS birçok insanın mikrobiyotasında kommensal olarak varlığını sürdürür, invaziv enfeksiyonlara neden olmaz. Çeşitli virülans faktörleri tanımlanmış olsa da halen kommensalden patojen etkene geçiş tam açıklığa kavuşturulamamıştır (2,32). Vajinal GBS kolonizasyonu, yenidoğanda invaziv enfeksiyona neden olduğu için birçok farklı ülkede kolonizasyon oranları araştırılmış, Amerika Birleşik Devletleri'nde bu oran %10-30, Avrupa'da %6,5-36, Asya'da %7,1-16, Afrika'da %11,9-31,6 olarak bulunmuştur (2). Ülkemizde GBS kolonizasyon oranları farklılıklar göstermekte olup, yapılan çalışmalarda %3-33 arasında bildirilmiştir (33-41).

GBS'nin vajinal veya anorektal bölgede kolonizasyon dinamikleri değişkendir, geçici olarak negatifleşebilir veya pozitifleşebilir (42). Gebeliği sırasında GBS bakteriürisi olan anneler yoğun bir şekilde kolonizedir ve bu durum bebek için risk oluşturmaktadır (43). GBS ile kolonize annelerin %30-70'i kolonize yenidoğan doğurur, bunların ise %1-2'sinde erken başlangıçlı sepsis gelişir (2). Hastalık, vakaların %90'dan fazlasında doğumda veya ilk 12 saat içinde pnömoni veya sepsis belirtileri ile ortaya çıkar (19).

2.4.1. Maternal-Fetal Bulaşma

Gastrointestinal sistem, GBS için bir rezervuar olup, vajinal kolonizasyonun kaynağını oluşturur. Gebelerin rektum veya vajinasında GBS kolonizasyonu yenidoğan hastalığı için majör risk faktörüdür. GBS kolonizasyonun yoğunluğu ile yenidoğana geçiş oranı ve hastalık gelişme riski artmaktadır (2,13). Genitoüriner veya gastrointestinal florasında GBS bulunan kadınlarda, bakteri asendan yol ile uterus kompartımanlarını kolonize edebilir. GBS amniyotik sıvı veya plasentaya geçerek koryoamniyonit gibi enfeksiyonlara neden olabilir. Enfekte amniyon sıvısının fetüs tarafından aspirasyonu ile yenidoğanda kolonizasyon gerçekleşebilir ve bu durum erken doğum veya erken başlangıçlı sepsis riskini artırır. Doğum sırasında vajinal kanaldan peripartum geçiş de bir diğer önemli bulaş yoludur (3,20,25). Perinatal dönemden sonra ise anneden bebeğe horizontal bulaş olabilir (44). GBS'nin maternal kolonizasyon aşamasından neonatal enfeksiyon gelişimine kadar olan süreci, Şekil 1'de şematik olarak sunulmaktadır.



Şekil 1. Neonatal bir patojen olarak GBS'nin hastalık döngüsü
[Rajagopal ve ark. çalışmasından uyarlanmıştır.] (24)

(A) GBS, kadınların genital ve alt gastrointestinal sistemlerinde normal florada bulunabilir.

(B) Gebelerde asemptomatik taşıyıcılık olması durumunda intrauterin alana geçebilir.

(C) Yenidoğanlar, GBS'yi uterus içinde veya doğum sırasında aspire eder.

(D) GBS, yenidoğanın akciğerlerine girerek pnömونيye neden olabilir.

(E) Akciğerlerden yenidoğanın kan dolaşımına geçerek sepsise neden olabilir ve kalp de dahil olmak üzere birçok organa yayılır.

(F) Kan-beyin bariyerini aşması durumunda menenjitte neden olabilir.

Yenidoğanda GBS enfeksiyonunun oluşmasını kolaylaştıran birçok risk faktörü tanımlanmıştır. Preterm doğum, membran rüptürü süresinin uzaması, annenin 20 yaşından küçük olması, Afrika kökenli ırk, önceki gebelikte GBS erken başlangıçlı sepsis öyküsü, GBS bakteriürisi, sık intravajinal muayene, invaziv fetal monitörizasyon ve membran sıyırma işlemi GBS kolonizasyonu ve neonatal hastalık riski ile ilişkilendirilmiştir (3).

2.5. GBS ENFEKSİYONLARI

2.5.1. Yenidoğan Enfeksiyonları

1974 yılında Baker ve Barrett yenidoğanlarda sepsisi, enfeksiyonun başlangıç zamanına göre erken başlangıçlı ve geç başlangıçlı olarak ikiye ayırmıştır (29). Türk Neonatoloji Derneği, erken başlangıçlı sepsisi yaşamın ilk 3 gününde (<72 saat) saptanan sepsis olarak tanımlamıştır (45). Amerikan Pediatri Akademisi ise GBS erken başlangıçlı sepsisi doğumdan itibaren 6 günlük sürede; kan, beyin omurilik sıvısı (BOS) veya normalde steril olması beklenen vücut bölgelerinden *S. agalactiae* izole edilmesi olarak tanımlamaktadır (3). GBS erken başlangıçlı sepsis için çeşitli risk faktörleri tanımlanmıştır, bunlardan en önemlisi maternal GBS kolonizasyonudur (3,29,44). GBS erken başlangıçlı sepsise bağlı olan ölüm oranları prematüre (<37 hafta) bebeklerde daha sık görülmektedir. 1970'li yıllarda artan vaka oranlarıyla birlikte erken başlangıçlı sepsis ile ilişkili mortalitenin %56'ya kadar yükseldiği, geç başlangıçlı enfeksiyonlarda ise bu oranın yaklaşık %20 olduğu bildirilmiştir.

Türk Neonatoloji Derneği, geç başlangıçlı sepsisi yaşamın 4-30. günlerinde gelişen sepsis olarak tanımlamıştır (45). Amerikan Pediatri Akademisi ise geç başlangıçlı sepsisi yaşamın ilk 7-89. günlerinde (ortalama 34 gün), steril olması gereken bir bölgede GBS'nin izole edilmesi olarak tanımlanmıştır (3). Geç başlangıçlı sepsiste etken %50 oranında anneye aynı serotiptedir veya çevresel edinilebilir (46). Erken başlangıçlı enfeksiyonlar sıklıkla sepsis ile ortaya çıkarken menenjit ve pnömoni genellikle geç başlangıçlı enfeksiyonlar olarak görülmektedir (47).

2.5.2. Gebelikle İlişkili GBS Enfeksiyonları

GBS, gebelik döneminde maternal komplikasyonlara yol açabilen önemli bir patojendir. Bu kapsamda GBS'ye bağlı gelişen idrar yolu enfeksiyonları da klinik açıdan dikkat edilmesi gereken durumlardandır (48). İdrar kültürleri gebeliğin herhangi bir haftasında alınabilir. Gebede idrar kültürü ile tespit edilen GBS, koloni sayısından bağımsız olarak raporlanmalıdır. Semptomatik gebelere veya asemptomatik olsa bile koloni miktarı 100.000 CFU/ml' nin üzerinde olan gebelere piyelonefrit veya erken doğum riskini azaltacağı için tedavi önerilmektedir (8).

Gebelikle ilişkili hastalıklar daha çok doğum sonrası dönemde meydana gelmektedir. Vakaların yarısı üst genital sistem, plasenta veya amniyotik kesede oluşan enfeksiyonlar, diğerleri ise bakteriyemi, fetal ölüm olmaksızın endometrit veya koryoamniyonit, pnömoni ve puerperal sepsis olarak sıralanabilir (2,19).

2.5.3. Gebe Olmayan Yetişkinlerde GBS

GBS enfeksiyonları genellikle yaşamın ilk 90 gününe kadar ortaya çıksa da yenidoğanlarla sınırlı değildir (19). Yetişkin hastalarda invaziv hastalık gelişmesi için ileri yaş, obezite, siyah ırk, diyabet, malignite ve HIV gibi altta yatan hastalık öyküsü risk faktörleridir (49). Yetişkinlerde meydana gelebilecek klinik tablolar arasında deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, odağı olmayan bakteriyemi, pnömoni, septik artrit ve osteomyelit gibi hastalıkların yanında menenjit ve endokardit gibi ciddi enfeksiyon tabloları sık olmasa da görülebilmektedir (50).

2.6. LABORATUVAR TANI YÖNTEMLERİ

GBS yenidoğan döneminde menenjit, sepsis ve pnömoni gibi ciddi invaziv enfeksiyonlara yol açabilir. Bu enfeksiyonların tanısında, klinik bulgulara ek olarak çeşitli laboratuvar yöntemleri kullanılmaktadır. Kan ve BOS gibi steril vücut bölgelerinden alınan örnekler, tanının temelini oluşturur (51). İnvaziv GBS menenjiti, BOS örneğinin Gram boyamasıyla hızla teşhis edilebilir (8–10). Buna ek olarak, GBS tanısında kullanılan güvenilir laboratuvar yöntemleri arasında; biyokimyasal testler, antijen temelli testler (doğrudan antijen tespiti ve lateks aglütinasyon), MALDI-TOF MS, DNA problemleri ve nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT) gibi çeşitli yöntemler de yer almaktadır (51).

2.6.1. GBS Taraması İçin Laboratuvar Prosedürleri

Maternal GBS taraması, preanalitik ve analitik süreçlerin titizlikle yürütülmesini gerektiren bir süreçtir. Amerikan Mikrobiyoloji Derneği (American Society for Microbiology, ASM), GBS taramasında kullanılmak üzere tespit ve tanımlamaya yönelik standart laboratuvar uygulamalarını içeren bir rehber yayımlamıştır. Bu rehberde düşük bakteri konsantrasyonlarında bile GBS tespitini en üst düzeye çıkarmak için spekulum kullanmadan, önce alt vajina daha sonra da

rektumdan tek bir sürüntü çubuğuyla örnek alınması önerilmektedir. Alınan rektovajinal sürüntü örnekleri Amies gibi sıvı bazlı bir taşıma besiyeri kullanılarak 24 saat içerisinde laboratuvara gönderilmelidir (8).

Zenginleştirici besiyerinde inkübasyon GBS tespit olasılığını yaklaşık 2 kat artırır (8,52). GBS tespitinde seçici zenginleştirici besiyerinde inkübasyonun, seçici olmayan zenginleştirici besiyerine kıyasla 2,5 kata kadar artış sağladığı bildirilmiştir. Kabul edilebilir seçici zenginleştirici besiyerleri gentamisin ve nalidiksik asit içeren Todd-Hewitt Broth (Trans-Vag Broth), kolistin ve nalidiksik asit içeren Todd-Hewitt Broth (Lim Broth) veya bu besiyerlerinin modifiye edilmiş ticari formülasyonlarıdır. Diferansiyel zenginleştirme buyyonları da GBS'nin çoğaltılmasını ve tek adımda tespit edilmesini sağlar ancak bu besiyerleri hemolitik olmayan suşların tespitinde yetersizdir (8).

Sıvı besiyerinde zenginleştirmenin ardından bir agar bazlı besiyerine pasaj önerilmektedir. Kullanılabilecek katı besiyerleri; %5 koyun kanı içeren triptik soy agar, %5 koyun kanı içeren Columbia agar, kolistin ve nalidiksik asit içeren Columbia agar ve bazı diferansiyel veya kromojenik besiyerleridir. Seçici ajanlar içeren besiyerlerinin kullanılması normal floradaki diğer mikroorganizmaların üremesini azaltarak GBS izolasyon olasılığını artırabilir (2,8,9).

Katı besiyerinde elde edilen şüpheli koloniler fenotipik yöntemlerle tanımlanabilir. Katalaz negatif ve CAMP pozitif olan izolatlar GBS olarak tanımlanabilir ancak CAMP testi fazladan inkübasyon gerektirdiği için Modifiye CAMP veya hızlı spot CAMP yöntemleri sonuç alma süresini kısaltmıştır (8,53,54).

Lateks aglütinasyon reaktifleri, Streptokok türlerinin karbonhidrat antijenlerine göre Lancefield sınıflaması olarak bilinen gruplandırılmasına olanak sağlar. Grup B antijenlerinin saptanması kabul edilebilir bir tanımlama yöntemidir ancak lateks aglütinasyon yapılacaksa L-pirolidonil- β -naftilamid (PYR) testi yapılması da önerilir. *S. agalactiae* PYR reaksiyonu negatiftir (8,10,55).

Mikroorganizmaların tanımlanmasında, birden fazla fenotipik testi aynı platformda birleştiren manuel kitler veya otomatize tanı sistemleri geliştirilmiştir. Bu ticari sistemler, biyokimyasal reaksiyonları özel kartlar veya plakalar üzerinde değerlendirerek mikroorganizma tanımlamasını gerçekleştirir. İnkübasyon ve

analiz sürecini entegre biçimde yürüten bu cihazlar, elde edilen sonuçları önceden tanımlanmış veri tabanlarıyla karşılaştırarak hızlı ve doğru tür tayini sağlar (55–57).

Mikroorganizmaların protein profillerine dayalı olarak hızlı ve doğru tanımlanmasını sağlayan MALDI-TOF MS, GBS dahil β hemolitik streptokokları yüksek doğrulukla tanımlar. MALDI-TOF MS, oldukça hızlı sonuç vermesine rağmen, analiz öncesinde mikroorganizmanın en az 18 saat süre inkübasyonunu gerektirir (8,55,57).

Amerikan Mikrobiyoloji Derneği'nin rehberine göre kültür referans yöntem olarak kabul edilmekle birlikte, moleküler yöntemler hızlı ve güvenilir bir alternatif olarak öne çıkmaktadır (8). Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Birliği (ACOG), NAAT yöntemleri kullanılarak GBS tespiti oranlarının kültür yöntemi ile uyumlu olduğunu ve bu testlerin doğum öncesi tarama için kültürle karşılaştırıldığında daha hassas bir alternatif olabileceğini bildirmiştir. NAAT uygulamaları teste göre değişmekle birlikte kültürle karşılaştırıldığında %96'nın üzerinde duyarlılık ve %88-96 arasında özgüllüğe sahiptir. Özgüllüğü düşüren ek pozitifliklerin kültüre kıyasla NAAT'ın artan duyarlılığı nedeniyle saptanan gerçek pozitifler olabileceği belirtilmiştir. Moleküler testler mikroorganizmayı izole etmediği için penisilin alerjisi olan gebelerde gerekli olan antibiyotik duyarlılık testleri yapılamaz. Bu nedenle NAAT ile GBS sonuçları pozitif çıkarsa ek bir kültür ve antibiyotik duyarlılık testi yapılması gerekebilir (8,58,59). NAAT özellikle gebelerde GBS taramasında, tanıya kıyasla daha yaygın olarak kullanılmaktadır. GBS taramasına yönelik ilk PZR testi, CAMP faktör genini hedef almıştır. Sonrasında, farklı gen hedeflerine yönelik birçok özgül PZR testi geliştirilmiştir. Moleküler tanı yöntemleri, mikroorganizmanın genetik materyalini direkt klinik örneklerden veya ön zenginleştirilme yapılmış besiyerinden genellikle bir saatten kısa sürede tespit edebilmektedir (55,57). Yapılan çalışmalar, sıvı besiyerinde ön zenginleştirme sonrası uygulanan nükleik asit amplifikasyon testlerinin, kültür yöntemleriyle karşılaştırıldığında benzer ya da daha yüksek duyarlılığa sahip olduğunu göstermektedir (60,61). Direkt klinik örnekten gerçekleştirilebilen NAAT uygulamaları, kısa sürede sonuç vermeleri nedeniyle özellikle doğum eylemi sırasında GBS taşıyıcılığı bilinmeyen olgular, preterm

doğum tehdidi, erken membran rüptürü ve acil obstetrik müdahale gibi klinik açıdan zamanın kritik olduğu durumlarda karar sürecini hızlandırmak amacıyla tercih edilebilmektedir. GBS kolonizasyonunun geçici olabileceği göz önünde bulundurulduğunda daha önceki gebelik haftalarında GBS ile kolonize olan gebelerin doğum sırasında negatifleşebileceği ve bu nedenle bu hızlı PZR testlerinin gereksiz antibiyotik maruziyetini de önleyebileceği bildirilmiştir (58,62).

2.7. TEDAVİ VE KORUNMA

B grubu streptokoklar ve diğer beta hemolitik streptokokların penisilin ve sefalosporinlere duyarlı olması beklenir. Bu nedenle bu ajanların uygulanmasından önce rutin antimikrobiyal duyarlılık testleri yapılması önerilmemektedir. Şiddetli penisilin alerjisi olan gebelerde üreyen tüm GBS izolatları için duyarlılık testi yapılmalıdır (8,55).

2.7.1. İntrapartum Antibiyotik Profilaksisi

GBS erken başlangıçlı sepsisi gelişen birçok bebekte zaten doğumda birçok organ ya da sistem tutulumu olduğu için yenidoğana erken müdahale fırsatı sınırlıdır. Bu nedenle tedaviden çok yenidoğanda hastalık oluşmasını önlemeye yönelik çalışmalara odaklanılmıştır. Kolonize annelere doğum sırasında uygulanan antibiyotik profilaksisi etkili ve pratik bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Temel hedef vertikal bulaşı önlemektir (47). Anneye profilaktik tedavi verilmezse maternal floradan gelen GBS, vajinal doğum sırasında yenidoğana bulaşır (31,63). Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC), GBS erken başlangıçlı sepsisi önlemek amacıyla Amerikan Pediatri Akademisi (AAP), ACOG ve diğer kuruluşlarla birlikte ilk konsensus kılavuzunu 1996 yılında hazırlamıştır. Bu rehber tüm gebelerin doğumdan önce 35-37. haftalarda GBS kolonizasyonu açısından taranmasını ve GBS saptanan gebelerde intrapartum antibiyotik profilaksisinin uygulanmasını önermektedir (3). GBS kolonizasyon oranlarını daha doğru yansıtması amacıyla, 2019 yılında güncellenen ACOG rehberinde taramanın doğuma daha yakın, 36-37. haftalarda yapılması önerilmiştir (58).

İntravenöz (IV) penisilin, intrapartum profilakside birinci tercih olmaya devam etmektedir, ampisilin alternatif olarak kullanılabilir. Mevcut doz önerileri, fetal kanda ve amniyon sıvısında etkili ilaç seviyelerine ulaşmayı ve maternal toksisite riskini en aza indirmeyi hedeflemektedir. Penisilin G, 5 milyon ünite IV yükleme dozunun ardından, doğuma kadar her 4 saatte bir 2,5-3 milyon ünite IV idame dozu şeklinde uygulanmalıdır. Alternatif olarak, ampisilin 2 gram IV yükleme dozu sonrası, doğuma kadar her 4 saatte 1 gram IV idame dozu önerilmektedir. Düşük dereceli penisilin alerjisi olması durumunda sefazolin, yüksek alerji durumunda ise klindamisin veya klindamisine direnç varsa vankomisin ile profilaksi önerilmektedir (58) .

2.7.2. Aşı

GBS'nin neonatal invaziv enfeksiyon oluşturması maternal antikor titresiyile ilişkilidir. Doğurganlık çağındaki kadınların aşılınması yenidoğanları GBS enfeksiyonuna karşı koruyan pratik bir yöntemdir GBS aşısı için siyalik asit içeren kapsül polisakkaritleri ana hedefi oluşturur (2,31). GBS'nin farklı serotiplerine karşı yeterli koruma sağlayabilmek için çok değerlikli (multivalan) polisakkarit bazlı aşı gerekir. Kapsül polisakkaritleri dışında diğer virülans faktörleri de alternatif aşı hedefi olabilir (64). Gebelikte aşının uygulanması için en uygun dönem üçüncü trimester başlarıdır (65). Üçüncü trimesterde maternal opsonizasyon sağlayan antikorlar fetüse aktarılır ve yenidoğanda erken ve geç başlangıçlı sepsis oluşma riskini azaltır. Doğurganlık çağındaki kadınların aşılınması yenidoğanları GBS enfeksiyonuna karşı koruyan pratik bir yöntemdir (31). Günümüzde faz II aşamasında olan iki aşı adayını Pfizer ve MinervaX tarafından geliştirilmiştir. Ancak aşı etkinliğinin değerlendirilebilmesi için gereken geniş örneklem hacimli faz III çalışmaları ruhsatlandırma aşamasında önemli bir zorluk oluşturmaktadır (66,67).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamız tek merkezli, tanımlayıcı ve prospektif bir çalışma olarak tasarlanmıştır. Çalışma tasarımı, “The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology” (STROBE) kılavuzunun modifikasyonu olan Microbiology Investigation Criteria for Reporting Objectively (MICRO) kılavuzuna uygun şekilde oluşturulmuştur (68,69). Helsinki Bildirgesi’nde geçen uluslararası etik kurallar çerçevesinde yapılan çalışmamız için Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulundan 13.02.2024 tarihli 4290 sayılı onay alınmıştır.

3.1. HASTA GRUBU

Araştırmamıza Mayıs-Aralık 2024 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği’ne rutin kontrol amacıyla başvuran veya aynı dönemde serviste yatan 36 hafta ve üzeri gebelerden alınan örnekler dahil edilmiştir.

Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine başvuran gebelerden alınan tekrar eden örnekler, daha önceden GBS üremesi olanlar ve 36 haftadan düşük gebelik haftasındakiler çalışma dışı bırakılmıştır.

Gebelerde GBS kolonizasyon oranını belirlemek için 2023 yılında Z.33 Gebelik Durumu tanısıyla başvuran 7219 hasta sayısından 2024 yılı öngörülerek %5 hata payı ile %80-99 güven seviyelerinde örneklem büyüklükleri hesaplanmıştır. Çalışmamıza %95 güven seviyesini karşılayacak şekilde 365 gebeden alınan rektovajinal örnek dahil edilmiştir.

3.1.1. Hasta Bilgilerinin Toplanması

Polikliniğe başvuran gebelerden örnek alınmadan önce gerekli bilgilendirmeler yapılarak bilgilendirilmiş gönüllü onam formu alınmıştır. Yaş, gebelik haftası, ek hastalık öyküsü, eğitim düzeyi, önceki gebelik bilgisi, son iki haftada antibiyotik kullanımı, gebelik süresince antibiyotik kullanımı, gebelik süresince sigara ve alkol

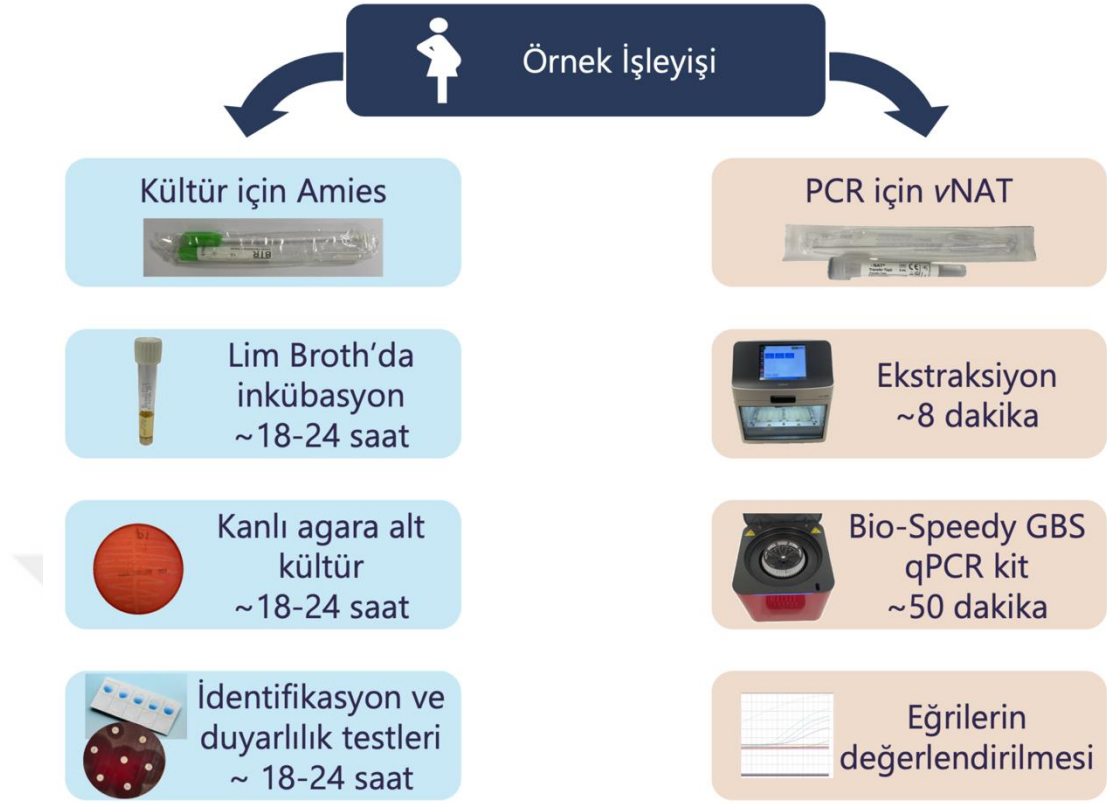
kullanımı, kontrasepsiyon yöntemi, son üç ayda tahmini cinsel ilişki sıklığı bilgilerini içeren anket formu doldurulmuştur. Elde edilen veriler Microsoft Excel tabanlı tablolar şeklinde arşivlenmiştir.

3.1.2. Rektovajinal Örneklerin Toplanması

Amerikan Mikrobiyoloji Derneği'nin önerileri doğrultusunda spekulum veya jel kullanılmadan, jinekolojik muayene masasında litotomi pozisyonunda, pamuklu kültür çubuğu ile önce alt vajinanın yaklaşık 2 cm içinden ve ardından aynı çubuk ile rektumun 1 cm içinden hafifçe çubuk döndürülerek örnek alınmıştır. PZR için de ikinci bir sürüntü çubuğu ile önce vajinal sonra rektal örnek alınmıştır. Kültür için alınan örnekler Amies transport besiyerinde, PZR için alınan örnekler ise vNAT içerisinde laboratuvara taşınmıştır (Şekil 2A ve 2B). Alınan örnekler bekletilmeden laboratuvara gönderilmiştir. Örneklerin kültür ve PZR için laboratuvar akış şeması Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 2. A; Amies transport besiyeri B; vNAT transfer tüpü ve sürüntü çubuğu



Şekil 3: Kültür ve PZR için laboratuvar örnek akış şeması

Çalışmada kullanılan besiyerleri, kitler ve araçlar:

Lim Broth (Todd Hewitt Broth with Colistin and Nalidixic acid) (RTA Kocaeli/Türkiye)

Amies Transport Besiyeri (BTR, Gülka Sağlık, Ankara, Türkiye)

Columbia agar + %5 sheep blood (bioMé'rieux, Marcy l'Etoile, France)

ChromID CPS®Elite (bioMé'rieux, Marcy l'Etoile, France)

Katalaz Testi (Chembio, Bilge Kimyevi Lab., Türkiye)

PYR (L-pirolidonil-β-naftilamid) Testi (Chembio, Bilge Kimyevi Lab., Türkiye)

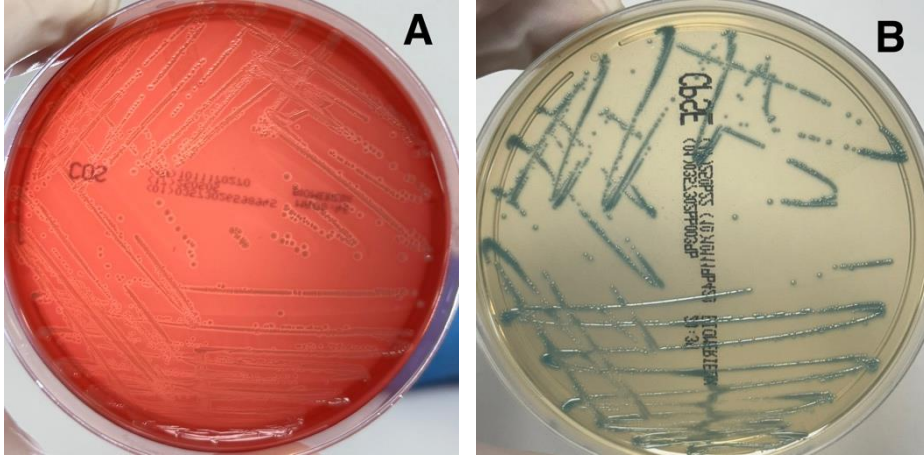
Streptokok Gruplandırma Kiti (Prolex™ Streptococcal Grouping Latex Kit, Pro-Lab Diagnostics, Richmond Hill, Ontario, Canada)

3.2. BAKTERİLERİN TANIMLANMASI VE DUYARLILIK TESTLERİ

Gebelerden alınan Amies transport besiyerindeki sürüntü örnekleri laboratuvarımıza ulaştığında Lim Broth'a inoküle edilerek %5 CO₂'li etüvde 35 ± 1°C'de 18-24 saat inkübasyona kaldırılmıştır (Şekil 4). İnkübasyonun ardından her örnek için Lim Broth'dan Columbia agar + %5 sheep blood ve chromID CPS®Elite besiyerlerine pasaj yapılarak %5 CO₂'li etüvde 35 ± 1°C'de 18-24 saat inkübasyona kaldırılmıştır. Katı besiyerinde inkübasyon sonrasında kanlı agarda beta hemoliz yapan veya hemoliz yapmayıp B grubu streptokok olduğundan şüphelenilen kolonilere veya kromojenik agarda mavi renkli GBS olabilecek şüpheli kolonilere Gram boyaması yapılmıştır (Şekil 5A ve 5B). Gram pozitif kok morfolojisindeki bakterilere katalaz testi yapılarak negatif olarak sonuçlanan kolonilere PYR testi yapılmıştır. PYR pozitif olanlar GBS aleyhine değerlendirilmiştir. Streptokok gruplandırma kiti ile grup tayini yapılmış, şüpheli koloniler VITEK® MS (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) ile tanımlanmıştır. Antibiyotik duyarlılık testleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak yapılmış ve "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing" (EUCAST) kriterlerine göre değerlendirilmiştir (70).



Şekil 4: Lim Broth



Şekil 5: A; Koyun Kanlı Agar'da beta hemoliz B; Kromojenik agarda GBS

3.2.1. Katalaz Testi

Kültürde üreyen şüpheli koloniden tek kullanımlık steril öze yardımıyla alınıp bir lamın üzerine sürülerek üzerine bir damla %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) damlatılarak karıştırılmıştır. On saniyede güçlü köpük ya da hava kabarcıkları çıkışı olmayan koloniler katalaz negatif olarak streptokok lehine değerlendirilmiştir.

3.2.2. PYR (L-pirolidonil- β -naftilamid) Testi

Bir petri kabına PYR maddesi emdirilmiş test kartı koyularak steril su ile hafif nemlendirilmiştir. Tek kullanımlık steril öze ile şüpheli bakteriden birkaç koloni sürülerek beş dakika kadar reaksiyon oluşumu için beklenmiştir. Süre sonunda bir damla sinnamaldehit reaktifi damlatılarak parlak pembe veya kırmızı renk oluşumu pozitif reaksiyon olarak *S. agalactiae* aleyhinde değerlendirilmiştir.

3.2.3. Lateks Aglutinasyon Testi

Gram pozitif, katalaz negatif izolatlar, Lancefield gruplarını (A, B, C, D, F, G) tanımlamak amacıyla Prolex™ Streptococcal Grouping Latex Kit ile test edilmiştir. Bu yöntem, bakteri hücre duvarından grup spesifik karbonhidrat antijenlerini serbestleştirerek tanımaya dayanır. Her izolat için steril tüpe bir damla Reaktif 1 (kolonilerin çözünmesini başlatan çözücü reaktif) eklenmiş, seçilen koloniler bu tüpe aktarılmıştır. Ardından bir damla Reaktif 2 (antijen ekstraksiyonu için asidik reaktif) ilave edilerek 5-10 saniye karıştırılmış ve sonrasında beş damla Reaktif 3 (reaksiyon

ortamını nötralize eden reaktif) eklenmiştir. Elde edilen süspansiyon, test kartı üzerindeki grup spesifik lateks reaktifi ile karıştırılmıştır. Her karışım steril çubuk ile homojen hale getirilmiş ve test halkası üzerinde yavaşça sallanarak aglütinasyon gözlemlenmiştir. Aglütinasyon varlığı, ilgili Lancefield grubunun varlığını göstermekte olup, Grup B'ye özgü reaktifle aglütinasyon gözlenmesi durumunda, izolatlar *S. agalactiae* olarak değerlendirilmiştir.

3.2.4. İdentifikasyon ve Duyarlılık Testleri

Şüpheli koloniler MALDI-TOF MS teknolojisini kullanan VITEK®MS (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) ile tanımlanmıştır. Toplanan klinik örneklerden *S. agalactiae* olarak identifikasyonu yapılan bakteriler için benzilpenisilin, eritromisin, klindamisin, levofloksasin, tetrasiklin, linezolid ve vankomisin duyarlılık testleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile, indüklenebilir klindamisin direnci varlığı ise D test yöntemi ile çalışılarak EUCAST önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir (70). *S. agalactiae* olarak tanımlanmış ve duyarlılık testleri yapılmış olan 45 izolat gliserinli triptik soy buyyon besiyerine aktarılarak -80°C'de saklanmıştır.

3.3. MOLEKÜLER YÖNTEMLER İLE GBS ARAŞTIRILMASI

3.3.1. Ekstraksiyon İşlemi

Laboratuvarımıza vNAT içerisinde gelen örneklere nükleik asit ekstraksiyon işlemi, manyetik boncuk ile saflaştırma temeline dayanan Hızlı Nükleik Asit Ekstraksiyon Kiti (Bioeksen, Türkiye) kullanılarak Zybiox EXM 3000 Nükleik Asit Ekstraksiyon Sistemi (Zybio Inc., China) ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda direkt sürüntü örnekleri ile çalışma prosedürü uygulanarak robotik ekstraksiyon protokolü ile çalışılmıştır (Şekil 6). Tüm çalışmalar Class IIA biyogüvenlik kabiniinde yapılmıştır.

Zybiox EXM 3000 Sistemi, adsorbe edilen manyetik boncukları farklı reaktif kuyularına taşımak amacıyla sabit manyetik çubukları kullanır. İlk aşamada, altı kuyucuklu kartuşun ikinci kuyusundaki sıvı-manyetik boncuk süspansiyonu manyetik çubuk ile karıştırılarak boncukların çubuklara yapışması sağlanır. İkinci aşamada manyetik boncuklar ilk kuyucuğa taşınarak bu kuyucukta Proteinaz K ile lizis yapılır.

Üçüncü ve dördüncü kuyucukta ise yıkama tamponu ile yıkama işlemleri yapılır. Beşinci kuyucukta sıcaklık 85 °C'ye kadar yükseltılarak elüsyon işlemi gerçekleştirilir.

Kite ait plastik kartuş standına kartuşlar yerleştirilerek çalışmaya başlanmıştır. Kartuşun ilk kuyucuğuna vNAT içerisinde laboratuvarımıza gelen ve 10 saniye vortekslenip ters yüz edilen 200 µl örnek ve 15 µl Proteinaz K pipetlenmiştir. Hazırlanan kartuşlar Zybio EXM 3000 cihazına yerleştirilerek ZYBIO-WB-B-200 ile sekiz dakikalık program başlatılmıştır. Çalışma sonunda 6. kuyucuktaki ekstrakt ile PZR aşamasına geçilmiştir.



Şekil 6: Zybio EXM 3000 ile Nükleik asit Ekstraksiyonu

3.3.2. qPCR Kit ile Amplifikasyon İşlemi

Ekstraksiyonu tamamlanan hasta örnekleri Bio-Speedy GBS (Grup B Streptokok) qPCR Kit (Bioeksan, Türkiye) ile Magnetic Induction Cycler (Mic) (Bio Molecular Systems, Australia) cihazında çalışılmıştır (Şekil 7). Bu kit ile GBS için hedef DNA bölgeleri gerçek zamanlı PZR ile tespit edilmiştir.



Şekil 7: Magnetic Induction Cycler (Mic) PCR cihazı

Test edilecek her örnek için bir adet kuyucuk ve her çalışmada kontaminasyonu değerlendirmek amacıyla bir adet negatif kontrol (NTC) ve bir adet pozitif kontrol (PC) kullanılmıştır. Her kuyucuk içerisinde ticari olarak hazır 2X qPCR Mix (qPCR testi için optimize edilmiş kullanıma hazır mix) GBS Oligo Mix (Spesifik nükleik asit amplifikasyonu ve tespiti: FAM: Group B Streptococcus, HEX: İnternal kontrol (IC)) bulunmaktadır. Kuyucuk içerisine ekstraksiyonu yapılan hasta örneklerinden 10 µl kalıp nükleik asit eklenmiştir (Şekil 8). Hazır template üstüne her çalışma için 10 µl PC ve 10 µl NTC (nükleaz içermeyen su) eklenmiştir. Daha sonra Magnetic Induction Cycler (Mic) PCR cihazında üretici firmanın oluşturduğu PZR protokolü GBS template seçilerek çalışmasına başlanmıştır. Reaksiyon protokolü Tablo 1’de gösterilmiştir.



Şekil 8: Ekstraksiyonu tamamlanan örneklerin pipetlenmesi

Tablo 1: Bio-Speedy GBS (Grup B Streptokok) qPCR Kit reaksiyon protokolü

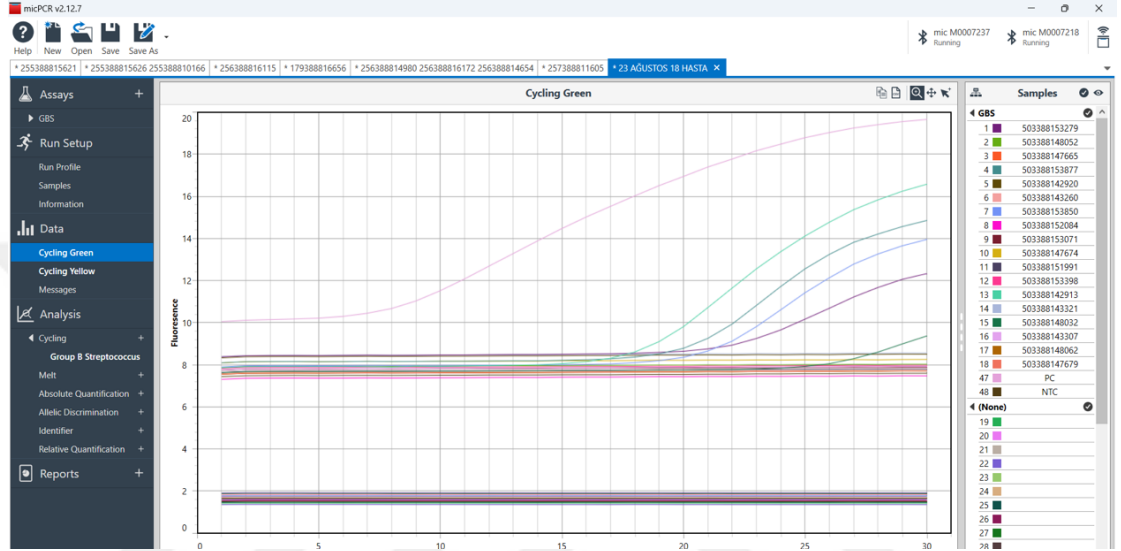
Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süre
Enzim Aktivasyonu	1 Döngü	52 °C	3 dk
Bekleme	1 Döngü	95 °C	10 sn
Denatürasyon	12 Touchdown Döngüsü (Döngü başına 1 °C azalma)	95 °C	1 sn
Bağlanma/Uzama (Touchdown)		67 °C – 56 °C	15 sn
Denatürasyon	30 Döngü	95 °C	1 sn
Bağlanma/Uzama		55 °C	15 sn
Tespit (Okuma)		(FAM-Green)/(HEX-Yellow)	

ν NAT ile yapılan PZR çalışması ile negatif olarak sonuçlanan örneklere, Lim Broth'dan zenginleştirme sonrası da PZR çalışması yapılmıştır.

3.3.3. PZR Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Üretici firma önerilerine göre elde edilen amplifikasyon eğrileri, eşik döngüsü (quantification cycle, Cq) değerleri olan tüm reaksiyon kuyucukları için incelenmiştir (Şekil 9). Eşik değerinin üzerindeki tüm sigmoidal eğriler “pozitif”, sigmoidal olmayan ve eşik değerin altında kalan eğriler “negatif” olarak değerlendirilmiştir. NTC reaksiyonunun herhangi bir hedefinde “Tespit Edildi” sonucu elde edilmesi

durumunda tüm örnekler için analiz tekrar edilmiştir. Herhangi bir örnekte internal kontrolün (IC) bulunduğu HEX kanalında “Tespit Edilmedi” sonucu elde edilmesi durumunda o hasta örneği için analiz tekrar edilmiştir. PZR analizi sonrasında tüm eğriler Sigmoida yazılımı (Sigmoida Software, Bioeksen, Türkiye) ile değerlendirilmiştir (Şekil 10).



Şekil 9: PZR ile elde edilen amplifikasyon eğrileri

X	Kuyu	Örnek	Hedef	Cq	Sonuçlar	Uyarılar
Unselect	1	503388153279	Grup B Streptokok	20.71	Pozitif	
Unselect	2	503388148052	Grup B Streptokok	N/A	Negatif	
Unselect	3	503388147665	Grup B Streptokok	N/A	Negatif	
Unselect	4	503388153877	Grup B Streptokok	18.47	Pozitif	
Unselect	5	503388142920	Grup B Streptokok	N/A	Negatif	
Unselect	6	503388143260	Grup B Streptokok	N/A	Negatif	
Unselect	7	503388153850	Grup B Streptokok	19.3	Pozitif	
Unselect	8	503388152084	Grup B Streptokok	N/A	Negatif	
Unselect	9	503388153071	Grup B Streptokok	N/A	Negatif	
Unselect	10	503388147674	Grup B Streptokok	N/A	Negatif	
Unselect	11	503388151991	Grup B Streptokok	N/A	Negatif	
Unselect	12	503388153398	Grup B Streptokok	N/A	Negatif	
Unselect	13	503388142913	Grup B Streptokok	16.33	Pozitif	
Unselect	14	503388143321	Grup B Streptokok	N/A	Negatif	
Unselect	15	503388148032	Grup B Streptokok	25.4	Pozitif	
Unselect	16	503388143307	Grup B Streptokok	N/A	Negatif	
Unselect	17	503388148062	Grup B Streptokok	N/A	Negatif	
Unselect	18	503388147679	Grup B Streptokok	N/A	Negatif	
Unselect	47	PC	Grup B Streptokok	6.78	Pozitif	
Unselect	48	NTC	Grup B Streptokok	N/A	Negatif	

Şekil 10: Sigmoida yazılımında sonuçların değerlendirilmesi

3.3.4. PZR (+) ve Kültür (-) Örnekler için “in-house” PZR Çalışması

Streptococcus agalactiae tespiti için glcK (glukokinaz) ve adhP (alkol dehidrogenaz) genleri PZR yöntemiyle amplifiye edilmiştir. Bu genler *Streptococcus agalactiae*'da evrimsel olarak korunmuş olan housekeeping genler arasında yer almaktadır. Her iki gen *S. agalactiae*'nın MLST şemasında yüksek diskriminasyon gücüyle kullanılmaktadır. İlgili genlerin amplifikasyonu için DNA ekstraksiyonu, QIAamp DNA Mini Kit kullanılarak, üretici firmanın önerdiği protokole uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. PZR reaksiyonu için TopTaq DNA Polymerase Master Mix (Qiagen, Almanya) kullanılmıştır.

Kullanılan Primer Dizileri:

glcK

F: ATGATGCACAAAGTCATCCGC

R: TTAATCATCACCCGTATTGGC

663 bp

adhP

F: ATGAGTTTAGTGTTGATTCTGG

R: TTATTCCTCTTCTGTCATTTCC

678 bp

Primer dizileri Jones et al. (2003) tarafından tanımlanan *Streptococcus agalactiae* MLST protokolüne uygun şekilde kullanılmıştır (71).

Reaksiyon Karışımı (25 µL toplam hacim):

12.5 µL 2x TopTaq Master Mix

1.0 µL forward primer (10 pmol/µL)

1.0 µL reverse primer (10 pmol/µL)

2.0 µL DNA

8.5 µL DNase/RNase free H₂O

Termal Döngü Koşulları:

95°C: 3 dk (başlangıç denatürasyonu)

35 döngü:

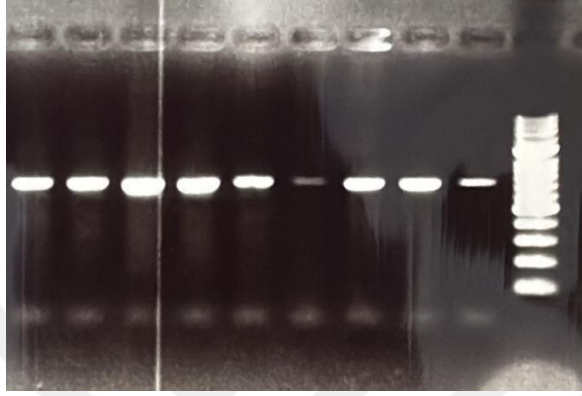
95°C: 30 sn

55°C: 30 sn (primer bağlanması)

72°C: 45 sn (uzama)

72°C: 5 dk

Amplifikasyon ürünleri %2'lik agaroz jelde elektroforeze tabi tutulmuştur (Şekil 11).



Şekil 11: *Streptococcus agalactiae* “in-house” PZR Jel Elektroforez görüntüsü

3.3.5. ST-17 Klonunun PZR ile Tespiti

S. agalactiae DNA izolasyonu, QIAamp DNA midi kiti (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak QIASymphony otomatik DNA ekstraksiyon cihazı (Qiagen, Hilden, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir. İzole edilen DNA örnekleri, Lamy ve ark. tarafından daha önce tanımlanan PZR yöntemi ile amplifiye edilmiştir. Bu amaçla ST-17S ve ST-17AS primerleri, ST-17 klonuna özgü gbs2018 S10 bölgesinden 210 bp'lik bir DNA fragmentini amplifiye etmek için kullanılmıştır (30).

DNA amplifikasyonu, GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, Waltham, MA, ABD) termal döngü cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Amplifikasyon 95°C'de 10 dakika ön denatürasyon aşaması ile başlatılmış, ardından 40 döngü boyunca aşağıdaki sıcaklık profili uygulanmıştır:

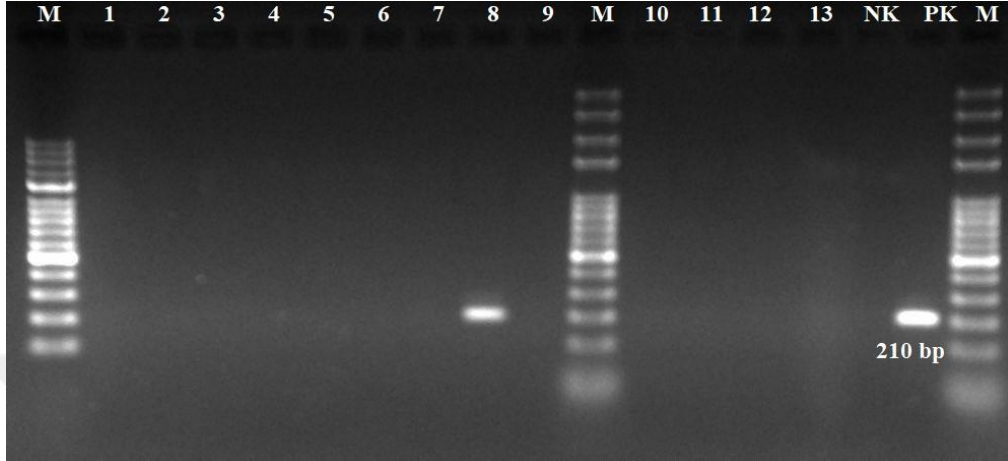
95°C'de 10 saniye (denatürasyon),

55°C'de 5 saniye (bağlanma),

72°C'de 10 saniye (uzama).

40 döngü tamamlandıktan sonra reaksiyon 95°C'ye kadar ısıtılmış ve ardından 35°C'ye soğutulmuştur. PZR ürünlerinin doğrulanması amacıyla elde edilen ampliconlar %1,5 agaroz jel içinde hazırlanarak, 100 V'de bir saat süreyle elektroforez

işlemine tabi tutulmuştur. Elektroforez sonrası DNA bantlarının görselleştirilmesi için uygun boyama yöntemi kullanılarak Gel Logic 2200 görüntüleme sistemi (Kodak Co., Rochester, NY, ABD) ile fotoğrafları çekilmiştir (Şekil 12).



Şekil 12: ST-17 klonunun Jel Elektroforez görüntüsü

3.4. İSTATİSTİK METODU

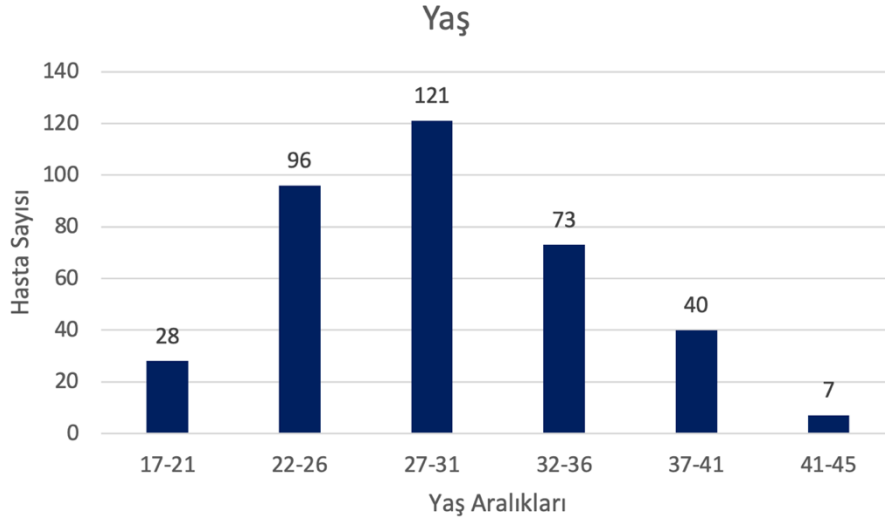
İstatistiksel analiz için SPSS 15.0 for Windows programı kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler; kategorik değişkenler için sayı ve yüzde, sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, median, minimum, maksimum olarak verilmiştir. Sonuçlar arasında uyum Cohen's Kappa istatistiği ile incelenmiştir. Bağımlı grupta oranlar Mc Nemar Testi ile, bağımsız grupta olanlar Ki Kare Testi ile karşılaştırılmıştır. Gruplarda sayısal değişkenlerin karşılaştırmaları normal dağılım koşulunu sağlamadığından bağımsız iki grupta Mann Whitney U Testi ile yapılmıştır. Alfa anlamlılık seviyesi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİN TANIMLANMASI

Araştırmamıza, Mayıs-Aralık 2024 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne rutin kontrol amacıyla başvuran veya aynı dönemde serviste yatan, 36. gebelik haftası ve üzerindeki 365 gebeden alınan rektovajinal örnekler dahil edilmiştir.

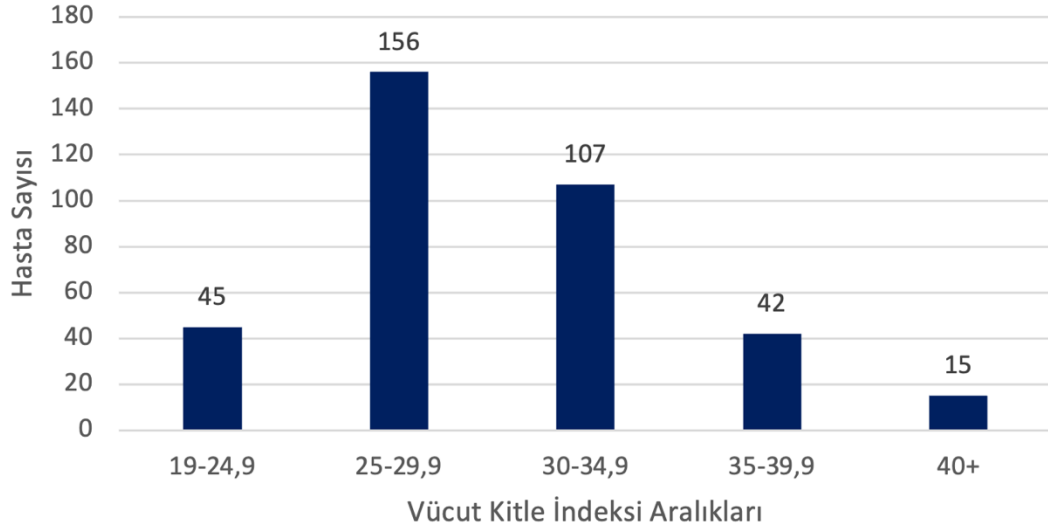
Çalışma popülasyonundaki gebelerin yaşları 17–45 yıl arasında değişmekte olup, yaş ortalaması $29,3 \pm 5,6$ yıl; medyan değeri ise 29 yıl olarak hesaplanmıştır. Gebelerin yaşlara göre dağılımı Şekil 13'te sunulmuştur.



Şekil 13: Çalışmaya dahil edilen gebelerin yaşlara göre dağılımı

Çalışmaya dahil edilen gebelerin vücut kitle indeksi (VKİ) 19,1–48,3 aralığında olup ortalama VKİ $29,8 \pm 4,9$ olarak bulunmuştur. Gebelerin vücut kitle indeksine göre dağılımı Şekil 14'te sunulmuştur.

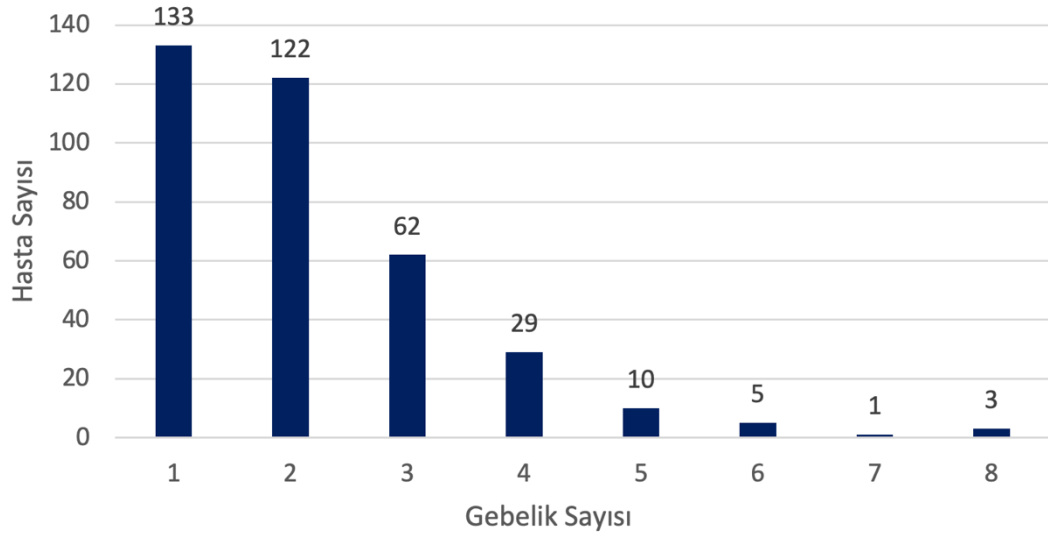
Vücut Kitle İndeksi



Şekil 14: Çalışmaya dahil edilen gebelerin Vücut Kitle İndeksi'ne göre dağılımı

Çalışmaya dahil edilen gebelerin gebelik sayıları 1-8 aralığında olup ortalama gebelik sayısı $2,2 \pm 1,3$ olarak bulunmuştur. Gebelerin 163'ü nullipar idi. Çalışmaya dahil edilen gebelerin gebelik sayılarına göre dağılım Şekil 15'te verilmiştir.

Gebelik Sayısı



Şekil 15: Çalışmaya dahil edilen gebelerin gebelik sayısına göre dağılımı

4.2. KÜLTÜR VE MOLEKÜLER TEST SONUÇLARI

Araştırmaya dahil edilen 365 gebeden 45’inde kültür yöntemi ile GBS üremesi saptanmıştır. Bu örneklerin 44’ünde PZR yöntemi ile de GBS tespit edilmiş, bir örnek ise üretici firma protokolüne göre direkt klinik örnekten vNAT ile çalışıldığında negatif olarak, Lim besiyerinde zenginleştirildikten sonra çalışıldığında pozitif olarak sonuçlanmıştır. Buna ek olarak kültürde GBS üremeyen 12 örnekte PZR ile GBS pozitifliği tespit edilmiştir. Bu 12 örnek için yapılan “in-house” PZR sonucunda tamamında GBS varlığı tespit edilmiştir. Toplamda direkt vNAT’tan PZR yöntemi ile 365 rektovajinal örnekten 56’sı pozitif olarak sonuçlanmıştır. Örneklerin kültür ve PZR sonuçları Tablo 2’de gösterilmektedir.

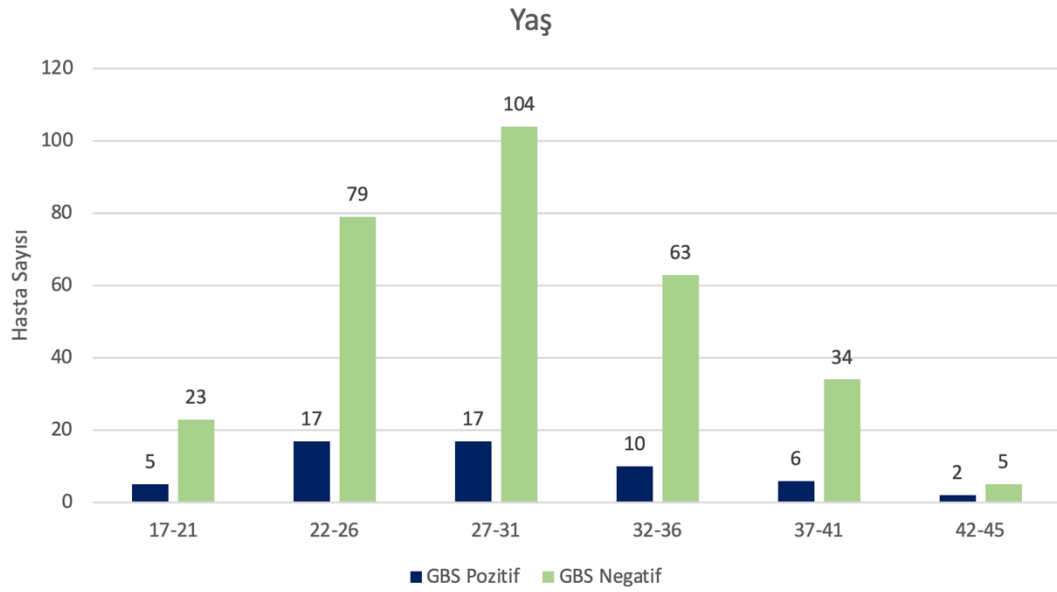
Tablo 2: Örneklerin kültür ve direkt vNAT’tan PZR sonuçları

		PZR		Toplam
		Pozitif	Negatif	
Kültür	Pozitif	44 (12.0%)	1 (0.3%)	45 (12.3%)
	Negatif	12 (3.3%)	308 (84.4%)	320 (87.7%)
Toplam		56 (15.3%)	309 (84.7%)	365 (100%)

Kültür ile direkt klinik örnekten PZR sonuçları arasındaki uyum, Cohen's Kappa katsayısı ile değerlendirildiğinde 0.851 olarak bulunmuş ve bu değer, iki yöntem arasında ‘neredeyse mükemmel’ düzeyde bir uyum olduğunu göstermiştir. Ayrıca direkt vNAT’tan PZR yöntemi ile negatif olarak sonuçlanan 309 hastanın Lim Broth’dan yapılan PZR çalışmasında ilave olarak 15 örnekte GBS pozitifliği saptanmıştır.

4.3. GBS KOLONİZASYONU VE KLİNİK ÖZELLİKLER

GBS negatif hasta grubunun yaş ortalaması 29,3±5,6 yıl, GBS pozitif hasta grubunun yaş ortalaması 29,6±6,0 yıl olarak hesaplanmış, yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,822). Yaş aralıklarına göre GBS sonuçlarının dağılımı Şekil 16’da gösterilmiştir.

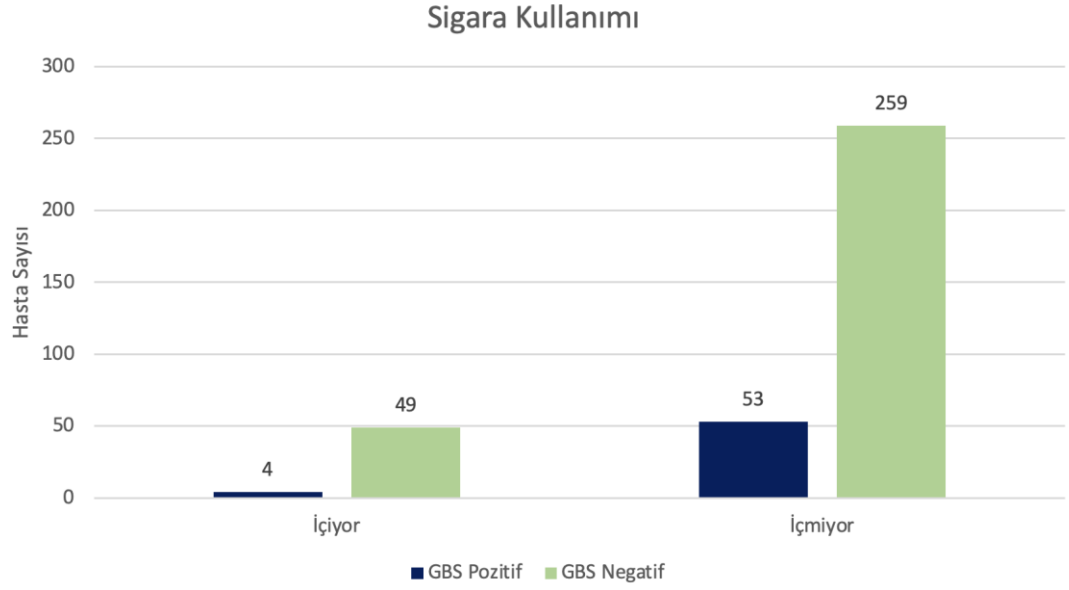


Şekil 16: Yaş aralıklarına göre GBS sonuçlarının dağılımı

GBS negatif hastaların ortalama gebelik sayısı $2,1 \pm 1,3$; GBS pozitif hastaların ortalama gebelik sayısı $2,3 \pm 1,4$ olarak saptanmış ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,362$).

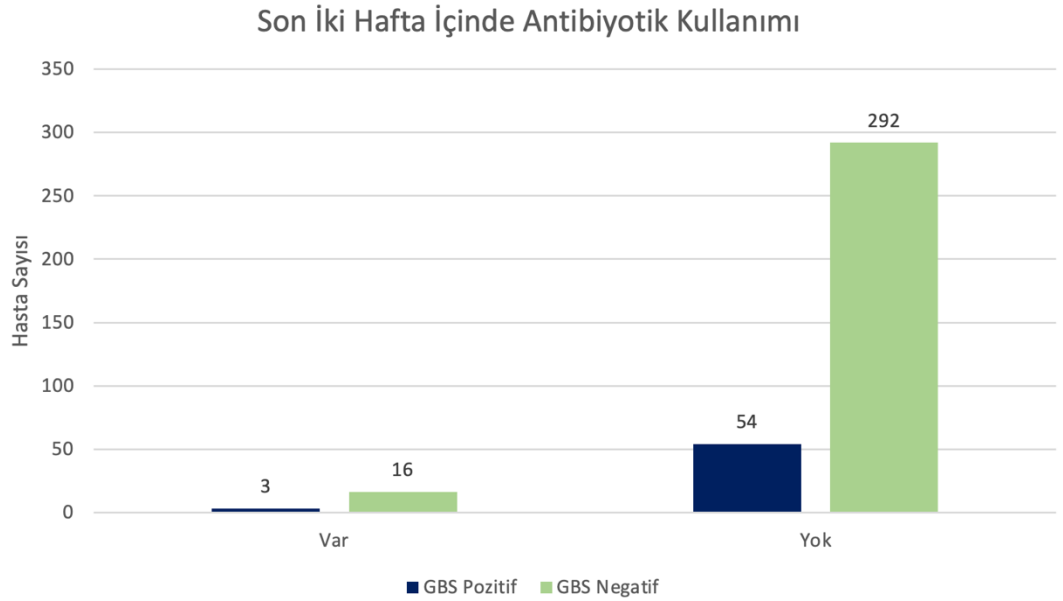
Vücut kitle indeksi ortalaması GBS kolonizasyonu negatif olanlarda $29,9 \pm 5,0$; GBS pozitif olanlarda ise $29,7 \pm 4,3$ olarak hesaplanmıştır. VKİ ve GBS kolonizasyonu arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0.968$).

Çalışmaya katılan gebelerin %14,5'i ($n=53$) mevcut gebeliğinde sigara kullandıklarını belirtmekle beraber hiçbir gebe alkol kullanımını belirtmemiştir. GBS kolonizasyonu ile sigara kullanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.080$). Sigara içme durumuna göre GBS sonuçlarının dağılımı Şekil 17'de sunulmuştur.



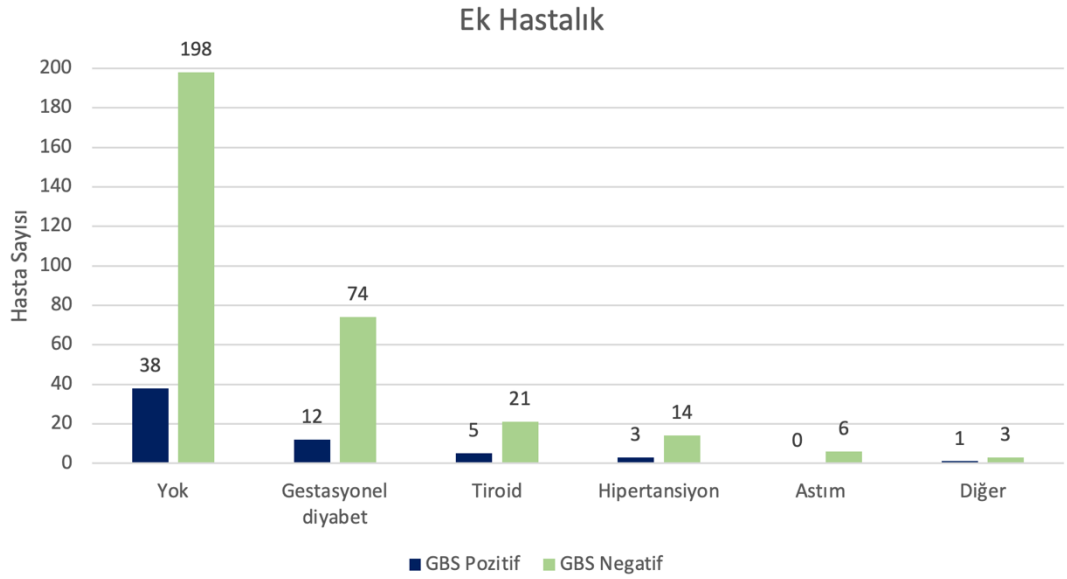
Şekil 17: Sigara içme durumuna göre GBS sonuçlarının dağılımı

Çalışmaya dahil edilen gebelerin son iki hafta içinde antibiyotik kullanım öyküleri sorgulanmış ve bu dönemde antibiyotik kullananlarla kullanmayanlar arasında GBS kolonizasyonu açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=1,000$). Antibiyotik kullanımına göre sonuçların dağılımı Şekil 18’de verilmiştir.



Şekil 18: Son iki hafta içinde antibiyotik kullanımına göre GBS sonuçlarının dağılımı

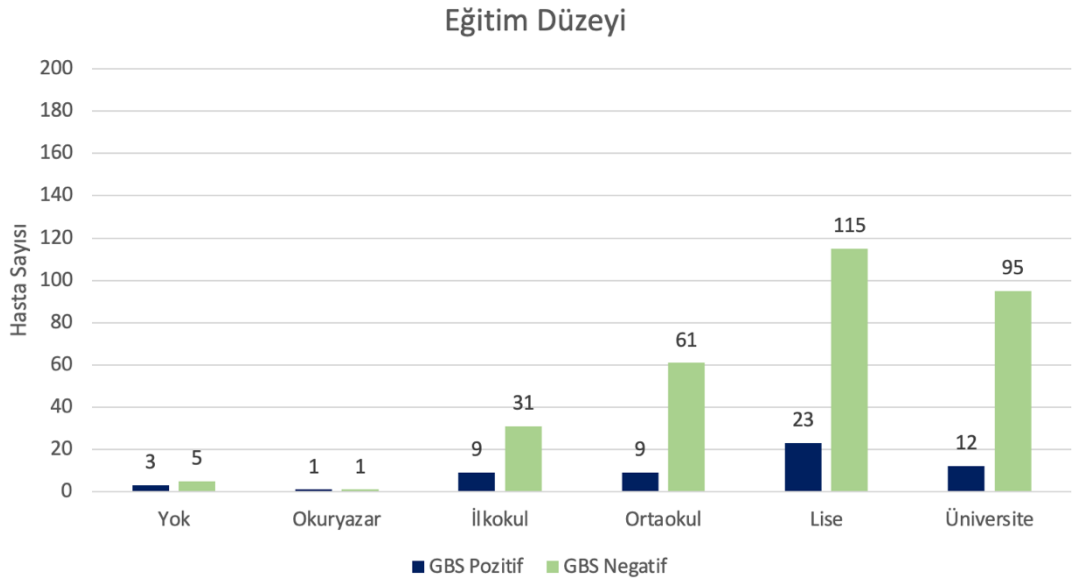
Çalışmaya dahil edilen gebelerin %64,7'sinde (n=236) herhangi bir ek hastalık bulunmamaktaydı. En sık görülen ek hastalık %23,6 (n=86) ile gestasyonel diyabet olurken, %7,1'inde (n=26) tiroid hastalığı, %4,7'sinde (n=17) hipertansiyon ve %1,6'sında (n=6) astım bulunmaktaydı. GBS kolonizasyonu ile ek hastalıkların varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,853). Ek hastalık dağılımları ile GBS kolonizasyonları arasındaki Şekil 19'da gösterilmiştir.



Şekil 19: Ek hastalık durumuna göre GBS sonuçlarının dağılımı

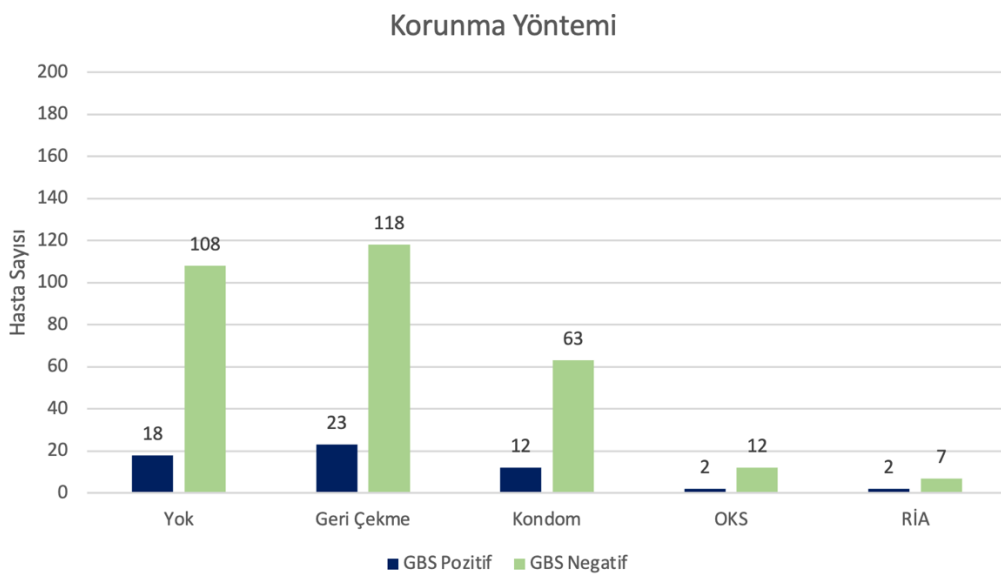
4.4. GBS KOLONİZASYONU VE SOSYODEMOGRAFİK ÖZELLİKLER

Çalışmamıza katılan gebelerin %29,3'ü (n=107) üniversite, %37,8'i (n=138) lise, %19,2'i (n=70) ortaokul %11'i (n=40) ilkokul mezunuydu. Çalışmaya dahil edilen gebelerin %0,5'i (n=2) yalnızca okuryazar, %2,2'si (n=8) ise okuryazar değildi. GBS kolonizasyonu ile eğitim düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0,106). Eğitim düzeyine göre GBS sonuçlarının dağılımı Şekil 20'de sunulmuştur.



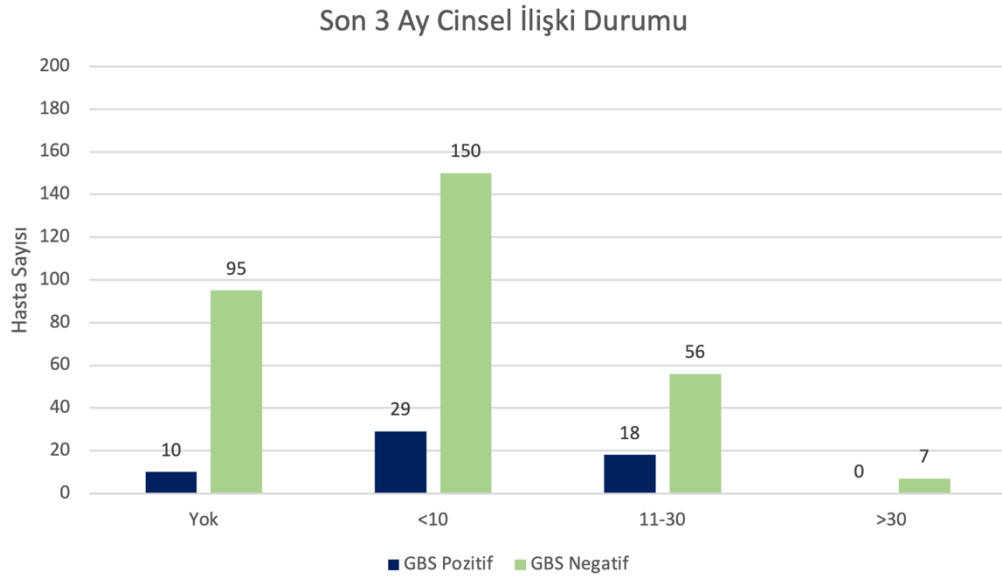
Şekil 20: Eğitim düzeyine göre GBS sonuçlarının dağılımı

Gebelik öncesi korunma yöntemleri incelendiğinde %38,6'sının geri çekme yöntemi, %20,5'inin prezervatif, %3,8'inin oral kontraseptif (OKS), %2,5'inin rahim içi araç (RİA) kullandığı; %34,5'inin ise herhangi bir korunma yöntemi kullanmadığı belirlenmiştir. GBS kolonizasyonu ile korunma yöntemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,106$). Korunma yöntemine göre GBS sonuçlarının dağılımı Şekil 21'de verilmiştir.



Şekil 21: Korunma yöntemine göre GBS sonuçlarının dağılımı

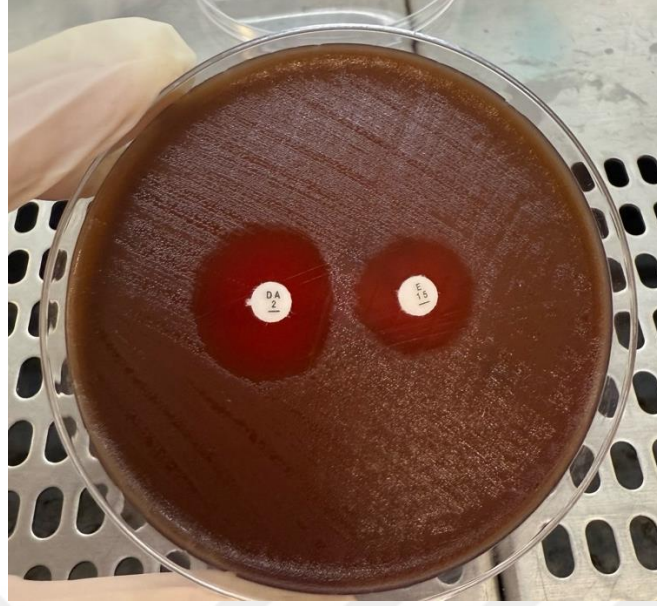
Gebelerin son 3 ay içindeki cinsel ilişki sıklığı sorgulandığında %28,8'i bu dönemde cinsel ilişkide bulunmadığını, %49'u son 3 ay içinde 1-10 kez, %20,3'ü 11-30 kez, %1,9'u ise 30'dan fazla kez cinsel ilişkide bulunduğunu belirtmiştir. Son 3 ay içinde hiç cinsel ilişkide bulunmayan grupta GBS negatifliği oranı diğer gruplara kıyasla daha yüksekti. GBS pozitif olan grupta, son 3 ay içinde 11-30 kere cinsel ilişkide bulunma oranı istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur (p=0,036). Gebelerin son 3 ay içindeki cinsel ilişki sıklığına göre GBS sonuçlarının dağılımı Şekil 22'de verilmiştir.



Şekil 22: Son 3 ay içindeki cinsel ilişki durumuna göre GBS sonuçlarının dağılımı

4.5. GBS İZOLATLARININ DUYARLILIK SONUÇLARI

Kültürde üretilen 45 izolatın tamamı penisiline duyarlıydı, eritromisine %37,8 ve klindamisine %33,3 oranında direnç saptandı. İzolatların %13,3'ünde indüklenebilir klindamisin direnci pozitifliği (Şekil 23). Antibiyotik duyarlılık sonuçları Tablo 3'te verilmiştir.



Şekil 23: D-test ile indüklenebilir klindamisin direnci pozitif bir GBS izolatu

Tablo 3: Antibiyotik duyarlılık sonuçları

	S%	I %	R %
Benzilpenisilin	100	-	-
Eritromisin	62,2	-	37,8
Klindamisin	66,7	-	33,3
Levofloksasin	0	86,7	13,3
Tetrasiklin	17,8	-	82,2
Linezolid	100	-	-
Vankomisin	100	-	-

S – Duyarlı, standart doz I – Duyarlı, yüksek doz R - Dirençli

4.6. GBS İZOLATLARININ ST-17 ANALİZ SONUÇLARI

Kültür ve direkt klinik örnekten vNAT ile pozitiflik tespit edilen toplam 57 örnekten dördünün (%7), hipervirülan suşlardan biri olarak kabul edilen ST-17 ile uyumlu genetik profile sahip olduğu saptanmıştır.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, 36. gebelik haftası ve üzerindeki 365 gebede GBS taşıyıcılığı hem konvansiyonel kültür yöntemi hem de PZR yöntemi ile araştırılmış, kültür yöntemiyle GBS pozitifliği %12,3; vNAT tüpünden direkt klinik örnekten PZR yöntemiyle %15,3 olarak saptanmıştır. Kültür ile vNAT'tan çalışılan PZR sonuçları arasında “neredeyse mükemmel” düzeyde bir uyum olduğu görülmüştür. Cinsel ilişki sıklığı ile GBS kolonizasyonu arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, son 3 ay içinde 11-30 kez cinsel ilişki bildirenlerin oranı, GBS pozitif gebe grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur (p=0,036). Kültürde üreyen ve direkt klinik örnekten vNAT ile pozitiflik tespit edilen örneklerin %7'sinde hipervirülan ST-17 klonu saptanmıştır.

GBS taramasına yönelik yaklaşımlar ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Kanada ve Almanya gibi ülkelerde tüm gebelere 35–37. gebelik haftaları arasında rutin GBS taraması yapılması önerilmektedir (72,73). Buna karşılık İngiltere'de, rutin antenatal GBS taraması uygulanmamakta; yalnızca risk faktörü bulunan gebelerde intrapartum antibiyotik profilaksisi önerilmektedir (74). Bu farklılıklar, ülkelerin GBS hastalık yüküne, sağlık sistemi politikalarına ve maliyet-etkinlik değerlendirmelerine bağlı olarak şekillenmiştir. Ülkemizde GBS taramasına ilişkin ulusal düzeyde standartlaştırılmış bir kılavuz bulunmamaktadır.

Rutin GBS taramasının ardından doğuma kadar geçen sürede kadınların yeniden kolonize olabileceği ve bu durumun, taramada negatif bulunan annelerin doğum sırasında GBS taşıyıcısı olmalarına rağmen uygun profilaksi alamamalarına ve yenidoğanda enfeksiyon riskinin artmasına yol açabileceği bildirilmektedir (75). Parente ve ark.'nın yaptığı çalışmada, 35–37. gebelik haftalarında GBS taraması negatif çıkan kadınların yaklaşık %9'unda doğum sırasında GBS kolonizasyonu geliştiği ve bunun da yenidoğanlarda erken başlangıçlı GBS enfeksiyonu riskini artırabileceği gösterilmiştir (76). ACOG, GBS kolonizasyonunun gebelik süresince değişkenlik gösterebilmesi nedeniyle, 2019 yılında tarama haftalarını 35–37. gebelik haftasından 36–37. haftaya güncellemiş; böylece tarama sonuçlarının doğum anındaki

kolonizasyon durumunu daha doğru yansıtması hedeflenmiştir (58). Bu öneriler doğrultusunda, çalışmamıza 36. gebelik haftasının üzerindeki gebeler dahil edilmiştir. Karakuş ve ark.'nın 24 hafta ve üzeri gebelerle yaptığı çalışmada GBS kolonizasyon oranı %8 olarak bildirilmiş; Kalpakçı ve ark.'nın 30 hafta ve üzeri gebelerle yapılan çalışmasında ise %7,9 olarak saptanmıştır (38,77). Bu çalışmalarda taramaların erken gebelik haftalarında yapılmış olması, çalışmaların bir kısıtlılığı olarak değerlendirilebilir. Çalışmamızda ACOG önerileri doğrultusunda daha ileri gebelik haftalarının hedeflenmesi doğum anındaki gerçek taşıyıcılığı daha doğru yansıtmaktadır.

Yapılan çalışmalar, yalnızca vajinal örnekle yapılan taramalarda GBS tespit oranlarının düşük olduğunu, rektovajinal örnek alınması ile kolonizasyon oranlarında belirgin bir artış sağlandığını göstermektedir (1,78,79). Bidgani ve ark. GBS pozitiflik oranlarını vajinal kültürle %27,7, PZR ile %43,8; rektal örnek alındığında ise kültürle %30,7, PZR ile %41,6 olarak bulmuşlardır (80). Bununla birlikte Kadanalı ve ark. GBS kolonizasyon oranını rektal sürüntülerde (%4,7) vajinal sürüntülere (%10,7) kıyasla daha düşük bulmuş bu da rektal örneklerin tek başına taramada sınırlı kalabileceğini düşündürmüştür (81). Bu bulgular, vajinal ve rektal örneklemenin birlikte yapılmasının GBS kolonizasyonu saptanma oranına olumlu yönde katkı sağladığını ortaya koymaktadır. ASM kılavuzu da ideal GBS taraması için rektovajinal örnek alınmasını önermektedir (8) Çalışmamızda da kılavuzların önerileri ve literatürdeki bulgular dikkate alınarak rektovajinal örnekleme yapılmıştır.

Dünya genelinde gebelerde GBS kolonizasyon oranlarının %5-30 arasında değiştiği bildirilmektedir (20). Türkiye'de gerçekleştirilen çeşitli çalışmalarda ise GBS kolonizasyon oranları %3-33 arasında bulunmuş olup, bu farklılıklar kullanılan yöntemler, örnekleme zamanı, örnek alma bölgesi ve coğrafi değişkenlik gibi faktörlerle ilişkilidir (33-41). Çalışmamızda GBS pozitifliği %15,6 olarak saptanmış olup bu oran hem ülkemizde bildirilen oranlarla hem de küresel literatürle uyumludur.

Geleneksel kültür yöntemleri, GBS taramasında referans yöntem olarak bildirilmesine rağmen sonuçların elde edilmesi zaman almaktadır ve doğum anındaki acil müdahale ihtiyacını karşılamada yetersiz kalabilmektedir. Ayrıca kolonizasyon düzeyi düşük örneklerde veya örnek taşıma ve işleme süreçlerinde bakterilerin canlılığını kaybetmesi gibi durumlarda yanlış negatif sonuç verme riski taşımaktadır.

Bu durum, tanı testlerinin doğruluğunu değerlendirirken kültür testlerinin tek başına referans alınmasının yanıltıcı olabileceğini göstermektedir (55,82). Buna karşılık moleküler yöntemler, bakteri DNA'sını doğrudan tespit ederek kültür yönteminin saptayamadığı olguları da tanımlayabilmekte; bu sayede antibiyotik kullanımı, örnek taşıma sürecindeki gecikmeler veya bakteri canlılığının kaybı gibi durumlarda dahi doğru tespit yapılabilmesine imkan sağlamaktadır. Ayrıca kültür sonuçlarının elde edilmesi en az 48 saat sürerken; PZR, yüksek hassasiyet ve negatif prediktif değer ile çok daha kısa sürede sonuç verebilmekte, bu da özellikle doğum eylemi sırasında başvuran ve GBS durumu bilinmeyen gebeler için klinik karar almayı kolaylaştırmaktadır (1,55,61,62). GBS taraması için kromojenik besiyerleri, direkt klinik örneklerden veya zenginleştirilmiş besiyerlerinden uygulanan moleküler yöntemler geliştirilmiştir (1,55). Moleküler yöntemler kültüre kıyasla daha yüksek duyarlılık oranları sunarak kabul edilebilir alternatifler arasında yerini almıştır (8,61,82,83).

Yapılan bir çalışmada vajinal örneklerde GBS pozitifliği kültür ile %8,8, PZR ile %18,8 olarak bulunmuş, başka bir çalışmada ise bu oranlar sırasıyla %5 ve %7 olarak bildirilmiştir (33,37). Bu çalışmalarda zenginleştirme basamağı olmadan uygulanan PZR yöntemleri, kültüre kıyasla daha yüksek pozitiflik oranı göstermiş olup, PZR tabanlı testlerin daha yüksek analitik duyarlılığa sahip olduğunu desteklemektedir. Ayrıca 6.368 kadını içeren kapsamlı bir meta-analizde kültür yöntemiyle saptanan ortalama GBS kolonizasyon oranı %22,1, PZR ile %23,8 olarak bulunmuş; PZR'nin duyarlılığı %93,7, özgüllüğü ise %97,6 olarak bildirilmiştir (84).

Peng ve ark.'nın 2025 yılında gerçekleştirdikleri kapsamlı meta-analiz çalışmasında, PZR testlerinin gebelerde GBS taramasında yüksek duyarlılık (%96) ve özgüllük (%98) gösterdiği ortaya konmuştur. Çalışmada, kültür yöntemlerinin özellikle düşük bakteri yoğunluğunda yetersiz kalabildiği ve bu nedenle tek başına güvenilir bir altın standart olarak değerlendirilemeyeceği vurgulanmıştır. Bu nedenle, çalışmada bileşik referans standardı yaklaşımı benimsenmiştir. Bu yaklaşımda, kültür veya PZR testinden herhangi biri pozitifse örnek pozitif kabul edilmiştir. Bu yöntem, her iki testin de sınırlamalarını dikkate alarak daha güvenilir bir referans oluşturmayı amaçlamıştır. Bu bağlamda, kültür ve moleküler testlerin birlikte kullanıldığı bileşik referans standartların, tanısal doğruluğu daha güvenilir şekilde değerlendirmek

açısından önemli olduğu belirtilmiştir (82). Yapılan bir çalışmada, rektovajinal örneklerde GBS pozitifliği, zenginleştirme sonrası kültür ile %10,4, PZR yöntemiyle %21,7 bulunurken benzer başka bir çalışmada ise bu oranlar sırasıyla %14,7 ve %27,3 olarak bulunmuştur (41,85). Bu sonuçlar zenginleştirme aşamasından sonra yapılan kültür ve PZR testlerinin GBS taramasının tanısal etkinliğini anlamlı şekilde artırdığını göstermektedir.

Nielsen ve ark. doğum sırasında alınan rektovajinal örneklerde GBS pozitifliğini kültür yöntemiyle %27, direkt klinik örnekten iki farklı GBS PZR kiti ile %26 olarak bulmuş, her iki PZR yönteminin kültüre benzer oranda GBS pozitifliği saptadığı ve intrapartum kullanım için uygun olduğunu belirtilmiştir (86). Wang ve ark.'nın 939 gebe ile gerçekleştirdikleri çalışmada, doğrudan kültürle %13,2, zenginleştirilmiş kültürle %17,9, direkt örnekten uygulanan Xpert Xpress GBS testiyle %20,3, PZR yöntemiyle %17,4 oranında pozitiflik saptanmıştır (87). Yöntemlerin karşılaştırıldığı daha kapsamlı bir çalışmada gebelerden alınan rektovajinal örneklerde GBS pozitifliği kültür yöntemiyle %14,3, hızlı sonuç veren Xpert GBS testiyle %30,7 ve zenginleştirme sonrası PZR yöntemiyle %51,1 olarak bildirilmiştir (88).

Çalışmamızda zenginleştirilmiş kültür ile direkt klinik örnekten çalışmaya valide edilmiş Bio-Speedy GBS (Grup B Streptokok) qPCR Kiti ile PZR çalışmaları yapılarak bu yöntemler karşılaştırılmış ve iki yöntem arasında 'neredeyse mükemmel' uyum saptanmıştır. Çalışmamızda en yüksek pozitiflik oranı zenginleştirme sonrası PZR ile elde edilmiş olmakla birlikte, zenginleştirme adımı olmaksızın, direkt klinik örnekten PZR çalışıldığında da kültüre kıyasla daha yüksek pozitiflik oranı saptadığımız görülmektedir. Direkt klinik örnekten PZR, kültürde saptanamayan 12 GBS pozitifliğini saptamış ve bu pozitiflik ikinci bir PCR protokolü ile doğrulanmıştır. Bu durum, doğum eylemi gibi acil karar verilmesi gereken klinik durumlarda zenginleştirme adımı gerektirmeyen hızlı moleküler testlerin pratik ve güvenilir bir alternatif olabileceğini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda yapılan anketteki parametrelerden son 3 ayda 11–30 kez cinsel ilişkide bulunan gebelerde GBS pozitifliğinin istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunduğu ($p=0,036$), diğer parametrelerle GBS pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı saptanmıştır. Cools ve ark.'nın yaptıkları çok merkezli çalışmada örnek alımından önceki 24 saat içinde cinsel ilişkiye girme ($p=0,024$) ve

son 3 ayda 30 kereden fazla cinsel ilişkiye girme ($p=0,017$) GBS kolonizasyonu için risk faktörü olarak belirlenmiştir (89). Esmeon ve ark. cinsel ilişki sıklığı ile GBS kolonizasyonu arasında anlamlı bir ilişki saptamış, haftada 1–3 kez cinsel ilişkide bulunan kadınlarda GBS taşıyıcılığı riskinin yaklaşık iki kat arttığını gözlemlemişlerdir ($p=0,006$) (90). Bu bulgular, çalışmamızın bulgularıyla örtüşmektedir. Baker ve ark. cinsel ilişki öyküsü olmayan kadınlarda GBS kolonizasyon oranlarının daha düşük olduğunu bildirmiş; ancak cinsel partner sayısındaki artışın GBS kolonizasyon sıklığını doğrudan artırmadığını, dolayısıyla partner sayısı ile kolonizasyon arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığını ifade etmişlerdir (29). Cinsel davranışların GBS taşıyıcılığı üzerindeki olası etkilerini daha güçlü kanıtlarla ortaya koyabilmek için prospektif, çok merkezli ve kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

ST-17, serotip III ile ilişkili olup, neonatal menenjit olgularında baskın şekilde izole edilen, çapraz dokulara invazyon kapasitesi yüksek bir klonudur (7,30). Bu klonun konak hücrelere yüksek afiniteli bağlanmayı sağlayan özel yüzey proteinleri taşıdığı ve intratekal geçişi kolaylaştıran faktörlere sahip olduğu gösterilmiştir (24). Dünya genelinde özellikle yenidoğan dönemindeki menenjit olgularında ST-17 klonunun belirgin bir artış gösterdiği bildirilmektedir (26). Lamy ve ark.'nın yaptığı çalışmada 156 GBS izolatının 40'ı ST-17 olarak tespit edilmiş ve bunların 35'inin neonatal enfeksiyonlardan (erken başlangıçlı:10, geç başlangıçlı :25) izole edildiği ayrıca erken başlangıçlı olan 10 izolatın yedisinin menenjitten sorumlu olduğu belirtilmiştir (30). Hsu ve ark. GBS menenjiti olan 48 ve GBS sepsisi olan 140 yenidoğanı değerlendirmiş, menenjit olgularının %56,3'ünü ST-17 olarak tanımlanmışlardır (91). Bu veriler, ST-17'nin invaziv neonatal GBS enfeksiyonlarında baskın klon olduğunu ve özellikle menenjit gibi ağır tablolarda önemli bir etken olarak öne çıktığını göstermektedir. Aktaş ve ark. çeşitli klinik örneklerden izole edilen 108 GBS suşunda hipervirülan ST-17 klonunun varlığını araştırmış ve izolatların %5,5'ini ST-17 pozitif olarak saptamışlardır (92). Başka bir çalışmada çoğunluğu gebelerden olmak üzere %12,5 oranında hipervirülan ST-17 klonu saptanmıştır (93). Çalışmamızda pozitif olarak sonuçlanan 57 örnekten dördünde (%7) hipervirülan ST-17 klonunun varlığı tespit edilmiştir. Türkiye'de ST-17 yaygınlığına dair çok sınırlı veri bulunmaktadır; bu çalışmada elde edilen %7 oranı, ülkemizde bu klonun dolaşımında olduğunu

düşündürmektedir. GBS taramasının yanı sıra, izolatların yüksek riskli genotiplere ait olup olmadığının belirlenmesi, neonatal enfeksiyonların öngörülmesi ve önlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Bu bağlamda, özellikle hipervirülan özellikleriyle bilinen ST-17 klonunun varlığının araştırılması, perinatal dönemde alınacak koruyucu önlemlerin planlanmasında faydalı olabilir.

Türkiye'de yapılan çeşitli çalışmalarda GBS izolatlarının antibiyotik duyarlılık profilleri değerlendirilmiştir. Bu çalışmalarda GBS'lerde penisilin, vankomisin ve linezolid için direnç bildirilmemekle birlikte; eritromisin direnci %14,5-38,3 arasında, klindamisin direnci %13-27,5 arasında ve tetrasiklin direnci %42,5-90 arasında, indüklenebilir klindamisin direnci ise %9,5-25,8 arasında bildirilmiştir (92-96). Aktaş ve ark.'nın MLST ile ST-17 olarak tespit ettiği suşların %33,3'ü eritromisine, %16,7'si klindamisine dirençli bulunmuştur (92). Özçelik ve ark. ST-17 izolatları için levofloksasine %53,3, tetrasikline %93,3, eritromisine %86,7, klindamisine %53,3 oranında direnç bildirmiş, indüklenebilir klindamisin direnci %53,3 olarak bulunmuştur (93).

Çalışmamızda tüm GBS izolatları penisilin, vankomisin ve linezolide duyarlı bulunmuş; diğer antibiyotiklerin direnç oranları ise eritromisin için %37,8, klindamisin için %33,3, levofloksasin için %13,3, tetrasiklin için %82,2 ve indüklenebilir klindamisin direnci için %13,3 olarak belirlenmiştir. Tüm GBS izolatlarının penisilin, vankomisin ve linezolide duyarlı bulunması, bu antibiyotiklerin hala etkinliğini koruduğunu göstermektedir. Ancak, özellikle eritromisin ve klindamisin gibi alternatif ajanlara karşı saptanan yüksek direnç oranları, penisilin alerjisi olan olgularda tedavi seçeneklerini sınırlayabilir. Ayrıca indüklenebilir klindamisin direnci saptanan vakalar, tedavi öncesi fenotipik doğrulama testlerinin önemini bir kez daha ortaya koymaktadır. ST-17 pozitif dört izolatımızda levofloksasin direncine rastlanmamış, üçü tetrasiklin, biri eritromisin ve klindamisin dirençli bulunmuş, bir izolatta da indüklenebilir klindamisin direnci pozitif olarak bulunmuştur. Çalışmamızda ST-17 pozitif izolat sayısının sınırlı olması nedeniyle direnç oranları hakkında yorum yapılamamaktadır. Ancak literatürde bu klonla ilişkili yüksek antibiyotik direnç oranlarının bildiriliyor olması, ST-17 klonunun prevalansının bölgesel ve küresel olarak izlenmesini gerekli kılmakta ve GBS enfeksiyonlarının etkin yönetimi açısından önem taşımaktadır.

6. SONUÇ

Bu çalışmada, gebelerde GBS taraması için daha güvenilir, duyarlılığı yüksek ve hızlı tanı yaklaşımlarına duyulan önemli gereksinim vurgulanmakta; bu stratejilerin erken başlangıçlı sepsis insidansını azaltma potansiyeli ele alınmaktadır.

Çalışmamızda GBS taramasında direkt örnekten yapılan PZR testi ile kültür arasında neredeyse mükemmel derecede uyum saptanmıştır. Direkt örnekten ve zenginleştirme sonrası uygulanan PZR testleri kültüre kıyasla daha yüksek pozitiflik oranı göstermişlerdir. Bu bulgular, PCR yöntemlerinin GBS taramasında hızlı, güvenilir ve etkili bir alternatif olduğunu desteklemektedir.

GBS pozitif izolatların %7'sinde hipervirülan ST-17 klonunun varlığı tespit edilmiş olup, bu durum yalnızca taşıyıcılığın değil, izolatın genetik yapısının da enfeksiyon riskini belirlemede önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Türkiye'de ST-17 yaygınlığına dair veri azlığı, bu alanda daha geniş moleküler epidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

Cinsel ilişki sıklığı, GBS taşıyıcılığı ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki göstermiştir. Bu durum, GBS taşıyıcılığında davranışsal faktörlerin de etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu ilişkiyi daha net ortaya koymak için standart anketler eşliğinde prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Antibiyotik duyarlılık sonuçları, penisiline karşı direnç saptanmadığını, özellikle penisilin alerjisi olan hastalar için alternatif ajanlara karşı yüksek direnç oranları nedeniyle tedavi planlamasında dikkatli olunması gerektiğini ve bölgesel direnç profillerinin düzenli olarak izlenmesi gerektiğini göstermektedir.

Ülkemizde literatür ve kılavuzlara uygun olarak, gebeliğin son haftalarında yapılan GBS taramalarının yaygınlaştırılması ve moleküler yöntemlerin entegrasyonu önem taşımaktadır.

Çalışmamız, GBS tarama yaklaşımlarının değerlendirilmesi, moleküler yöntemlerin etkinliğinin ortaya konması ve yüksek riskli klonların izlenmesinin gerekliliği açısından hem ulusal hem de uluslararası düzeyde bilimsel pratiğe katkı sunmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Verani, J. R., McGee, L., & Schrag, S. J. (2010, November). Prevention of perinatal group B streptococcal disease: revised guidelines from CDC, 2010.
2. Shabayek, S., & Spellerberg, B. (2018). Group B streptococcal colonization, molecular characteristics, and epidemiology. *Frontiers in microbiology*, 9, 437.
3. Puopolo, K. M., Lynfield, R., Cummings, J. J., Hand, I., Adams-Chapman, I., Poindexter, B., ... & Committee On Infectious Diseases. (2019). Management of infants at risk for group B streptococcal disease. *Pediatrics*, 144(2).
4. Phares, C. R., Lynfield, R., Farley, M. M., Mohle-Boetani, J., Harrison, L. H., Petit, S., ... & Schrag, S. J. (2008). Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999-2005. *Jama*, 299(17), 2056-2065.
5. Nanduri, S. A., Petit, S., Smelser, C., Apostol, M., Alden, N. B., Harrison, L. H., ... & Schrag, S. J. (2019). Epidemiology of invasive early-onset and late-onset group B streptococcal disease in the United States, 2006 to 2015: multistate laboratory and population-based surveillance. *JAMA pediatrics*, 173(3), 224-233.
6. Poyart, C., Réglie-Poupet, H., Tazi, A., Billoët, A., Dmytruk, N., Bidet, P., ... & Trieu-Cuot, P. (2008). Invasive group B streptococcal infections in infants, France. *Emerging infectious diseases*, 14(10), 1647.
7. Plainvert, C., Hays, C., Touak, G., Joubrel-Guyot, C., Dmytruk, N., Frigo, A., ... & Tazi, A. (2020). Multidrug-resistant hypervirulent group B *Streptococcus* in neonatal invasive infections, France, 2007–2019. *Emerging infectious diseases*, 26(11), 2721.
8. Filkins L, Hauser J, Robinson-Dunn B, Tibbetts R, Boyanton B, Revell P. (2021) Guidelines for the Detection and Identification of Group B *Streptococcus*.
9. Spellerberg, B., & Brandt, C. (2015). *Streptococcus*. *Manual of clinical microbiology*, 383-402.
10. Winn, W. C., & Koneman, E. W. (2006). *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. Lippincott Williams & Wilkins.
11. Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. (Eds.). (2016). The streptococci, enterococci, and related genera. In *Medical microbiology* (27th ed., Chapter 14). McGraw-Hill Education.
12. Brown, J. H. (1939). Double-zone beta-hemolytic streptococci: their cultural characteristics, serological grouping, occurrence and pathogenic significance. *Journal of Bacteriology*, 37(2), 133-144.
13. Parks, T., Barrett, L., & Jones, N. (2015). Invasive streptococcal disease: a review for clinicians. *British medical bulletin*, 115(1).
14. Lancefield, R. C. (1933). A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *The Journal of experimental medicine*, 57(4), 571-595.
15. Sherman, J. M. (1937). The streptococci. *Bacteriological reviews*, 1(1), 3-97.

16. Facklam, R. (2002). What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clinical microbiology reviews*, 15(4), 613-630.
17. Bentley, R. W., Leigh, J. A., & Collins, M. D. (1991). Intra-genetic structure of *Streptococcus* based on comparative analysis of small-subunit rRNA sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 41(4), 487-494.
18. Nocard, E., & Mollereau, H. (1884). Sur une mammite contagieuse des vaches laitières. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 38(1), 308-314.
19. Le Doare, K., & Heath, P. T. (2013). An overview of global GBS epidemiology. *Vaccine*, 31, D7-D12.
20. Raabe, V. N., & Shane, A. L. (2019). Group B streptococcus (*Streptococcus agalactiae*). *Microbiology spectrum*, 7(2), 10-1128.
21. Lancefield, R. C., & Hare, R. (1935). The serological differentiation of pathogenic and non-pathogenic strains of hemolytic streptococci from parturient women. *The Journal of experimental medicine*, 61(3), 335.
22. Fry, R. M. (1938). Fatal Infections by Haemolytic *Streptococcus* Group B.
23. Eickhoff, T. C., Klein, J. O., Daly, A. K., Ingall, D., & Finland, M. (1964). Neonatal sepsis and other infections due to group B beta-hemolytic streptococci. *New England Journal of Medicine*, 271(24), 1221-1228.
24. Rajagopal, L. (2009). Understanding the regulation of Group B Streptococcal virulence factors. *Future microbiology*, 4(2), 201-221.
25. Vornhagen, J., Waldorf, K. M. A., & Rajagopal, L. (2017). Perinatal group B streptococcal infections: virulence factors, immunity, and prevention strategies. *Trends in microbiology*, 25(11), 919-931.
26. Armistead, B., Oler, E., Waldorf, K. A., & Rajagopal, L. (2019). The double life of group B *Streptococcus*: asymptomatic colonizer and potent pathogen. *Journal of molecular biology*, 431(16), 2914-2931.
27. Breeding, K. M., Ragipani, B., Lee, K. U. D., Malik, M., Randis, T. M., & Ratner, A. J. (2016). Real-time PCR-based serotyping of *Streptococcus agalactiae*. *Scientific reports*, 6(1), 38523.
28. Hauge, M., Jespersgaard, C., Poulsen, K., & Kilian, M. (1996). Population structure of *Streptococcus agalactiae* reveals an association between specific evolutionary lineages and putative virulence factors but not disease. *Infection and immunity*, 64(3), 919-925.
29. Baker, C. J., & Barrett, F. F. (1974). Group B streptococcal infections in infants: the importance of the various serotypes. *Jama*, 230(8), 1158-1160.
30. Lamy, M. C., Dramsi, S., Billoët, A., Réglie-Poupet, H., Tazi, A., Raymond, J., ... & Poyart, C. (2006). Rapid detection of the "highly virulent" group B *Streptococcus* ST-17 clone. *Microbes and infection*, 8(7), 1714-1722.
31. Melin, P. (2011). Neonatal group B streptococcal disease: from pathogenesis to preventive strategies. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(9), 1294-1303.
32. Liu, Y., & Liu, J. (2022). Group B *Streptococcus*: virulence factors and pathogenic mechanism. *Microorganisms*, 10(12), 2483.

33. Kuru, N., Kuru, O., Tüten, A., & Gonullu, N. (2021). Investigation of *Streptococcus agalactiae* Colonization in The Last Trimester Pregnants by Using Standard Culture and Molecular Methods. Journal of Tepecik Education & Research Hospital/İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dergisi, 31(1).
34. Kireççi, E., Özer, A., Arıkan, D. C., & Gül, M. (2010). Group B streptococcal vaginal colonization in the third trimester of pregnancy. Gynecology Obstetrics & Reproductive Medicine, 16(3), 144-148.
35. Yılmaz Karadağ, F., Hızıl, K., & Gelişen, O. (2013). Doğum eylemindeki gebelerde Grup B Streptokok kolonizasyonu. J Turk Soc Obstet Gynecol, 10(1), 16-20.
36. Bilge, G., Güdücüoğlu, H., Ayşe, Ö., & Berktaş, M. (2011). Gebelerde Grup B Streptokok Kolonizasyonu Ve Antimikrobiyal Duyarlılıkları. Ortadoğu Medical Journal, 3(2), 71-76.
37. Al-Wedyan, S., Gümral, R., Göktolga, Ü., Şahiner, F., Bedir, O., Güçlü, A. Ü., ... & Başustaoğlu, A. C. (2014). Son Trimester Gebelerde Vajinal Grup B Streptokok Kolonizasyonunun Saptanmasında Kültür Yöntemi ile Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yönteminin Etkinliklerinin Değerlendirilmesi. Gulhane Med J, 56(2), 80-4.
38. Karakuş, M., & Günçiner, Ş. (2007). Gebelerde grup B streptokok kolonizasyonu ve antimikrobiyal direnç paterni. Ege Tıp Dergisi, 46(3), 151-154.
39. Şanal, L., Sultan, N., & Güner, H. (2012). Son Trimestir Gebelerde Grup B Streptokokların Farklı Besiyerleri İle İzolasyonu Ve Serotiplendirilmeleri. Ortadoğu Medical Journal/Ortadoğu Tıp Dergisi, 4(3).
40. Özbaşı, E. (2022). İstanbul'un Önde Gelen Hastanelerinden Birinde Grup B Streptokok Tarama Ve Kolonizasyon Oranları. İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi, 26(2), 117-124.
41. Copur, D., Ozyurt, O. K., Kandemir, H., Ozhak, B., Ogunc, D., & Mendilcioglu, I. (2024). Comparison of polymerase chain reaction method with culture method in antenatal Group B Streptococcus screening. Ginekologia Polska, 95(12), 935-939.
42. Hansen, S. M., Ulbjerg, N., Kilian, M., & Sørensen, U. B. S. (2004). Dynamics of *Streptococcus agalactiae* colonization in women during and after pregnancy and in their infants. Journal of clinical microbiology, 42(1), 83-89.
43. Persson, K., Christensen, K. K., Christensen, P., Forsgren, A., Jørgensen, C., & Persson, P. H. (1985). Asymptomatic bacteriuria during pregnancy with special reference to group B streptococci. Scandinavian journal of infectious diseases, 17(2), 195-199.
44. Verani, J. R., & Schrag, S. J. (2010). Group B streptococcal disease in infants: progress in prevention and continued challenges. Clinics in perinatology, 37(2), 375-392.
45. Türk Neonatoloji Derneği. (2023). Yenidoğan enfeksiyonları tanı ve tedavi rehberi: 2023 güncellemesi (Prof. Dr. M. Satar, Prof. Dr. A. E. Arısoy, & Prof. Dr. İ. H. Çelik, Eds.). Türk Neonatoloji Derneği. <https://www.neonatology.org.tr/>.
46. Berardi, A., Rossi, C., Lugli, L., Creti, R., Bacchi Reggiani, M. L., Lanari, M., ... & GBS Prevention Working Group, Emilia-Romagna. (2013). Group B streptococcus late-onset disease: 2003–2010. Pediatrics, 131(2), e361-e368.

47. Melin, P., & Efstratiou, A. (2013). Group B streptococcal epidemiology and vaccine needs in developed countries. *Vaccine*, 31, D31-D42.
48. Allen, V. M., Yudin, M. H., Bouchard, C., Boucher, M., Caddy, S., Castillo, E., ... & Senikas, V. (2012). Management of group B streptococcal bacteriuria in pregnancy. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*, 34(5), 482-486.
49. Batalis, N. I., Caplan, M. J., & Schandl, C. A. (2007). Acute deaths in nonpregnant adults due to invasive streptococcal infections. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, 28(1), 63-68.
50. Watkins, L. K. F., McGee, L., Schrag, S. J., Beall, B., Jain, J. H., Pondo, T., ... & Langley, G. E. (2019). Epidemiology of invasive group B streptococcal infections among nonpregnant adults in the United States, 2008-2016. *JAMA internal medicine*, 179(4), 479-488.
51. Tavares, T., Pinho, L., & Bonifácio Andrade, E. (2022). Group B streptococcal neonatal meningitis. *Clinical microbiology reviews*, 35(2), e00079-21.
52. Platt, M. W., McLaughlin, J. C., Gilson, G. J., Wellhoner, M. F., & Nims, L. J. (1995). Increased recovery of group B Streptococcus by the inclusion of rectal culturing and enrichment. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 21(2), 65-68.
53. Darling, C. L. (1975). Standardization and evaluation of the CAMP reaction for the prompt, presumptive identification of *Streptococcus agalactiae* (Lancefield group B) in clinical material. *Journal of clinical microbiology*, 1(2), 171-174.
54. DiPersio, J. R., Barrett, J. E., & Kaplan, R. L. (1985). Evaluation of the Spot-CAMP test for the rapid presumptive identification of group B streptococci. *American journal of clinical pathology*, 84(2), 216-219.
55. Rosa-Fraile, M., & Spellerberg, B. (2017). Reliable detection of group B Streptococcus in the clinical laboratory. *Journal of clinical microbiology*, 55(9), 2590-2598.
56. Stager, C. E., & Davis, J. R. (1992). Automated systems for identification of microorganisms. *Clinical microbiology reviews*, 5(3), 302-327.
57. Arbefeville, S. S., Timbrook, T. T., & Garner, C. D. (2024). Evolving strategies in microbe identification—a comprehensive review of biochemical, MALDI-TOF MS and molecular testing methods. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 79(Supplement_1), i2-i8.
58. Naat, G., & Encourage, P. (2020). Prevention of group B streptococcal early-onset disease in newborns.
59. Sroka-Oleksiak, A., Pabian, W., Sobońska, J., Drożdż, K., Bogiel, T., & Brzywczy-Włoch, M. (2023). Do NAAT-based methods increase the diagnostic sensitivity of *Streptococcus agalactiae* carriage detection in pregnant women?. *Diagnostics*, 13(5), 863.
60. Buchan, B. W., Faron, M. L., Fuller, D., Davis, T. E., Mayne, D., & Ledebøer, N. A. (2015). Multicenter clinical evaluation of the Xpert GBS LB assay for detection of group B Streptococcus in prenatal screening specimens. *Journal of clinical microbiology*, 53(2), 443-448.

61. Filkins, L., Hauser, J. R., Robinson-Dunn, B., Tibbetts, R., Boyanton, B. L., & Revell, P. (2020). American Society for Microbiology provides 2020 guidelines for detection and identification of group B Streptococcus. *Journal of clinical microbiology*, 59(1), 10-1128.
62. Alfa, M. J., Sepehri, S., De Gagne, P., Helawa, M., Sandhu, G., & Harding, G. K. (2010). Real-time PCR assay provides reliable assessment of intrapartum carriage of group B Streptococcus. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(9), 3095-3099.
63. Boyer, K. M., & Gotoff, S. P. (1986). Prevention of early-onset neonatal group B streptococcal disease with selective intrapartum chemoprophylaxis. *New England Journal of Medicine*, 314(26), 1665-1669.
64. Gent, V., Lu, Y. J., Lukhele, S., Dhar, N., Dangor, Z., Hosken, N., ... & Kwatra, G. (2024). Surface protein distribution in Group B Streptococcus isolates from South Africa and identifying vaccine targets through in silico analysis. *Scientific Reports*, 14(1), 22665.
65. Nuccitelli, A., Rinaudo, C. D., & Maione, D. (2015). Group B Streptococcus vaccine: state of the art. *Therapeutic advances in vaccines*, 3(3), 76-90.
66. Thorn, N., Guy, R. L., Karampatsas, K., Powell, M., Walker, K. F., Plumb, J., ... & Le Doare, K. (2024). GBS vaccines in the UK: a round table discussion [version 1; peer review: 4 approved]. *F1000Research*, 13.
67. Pena, J. M. S., Lannes-Costa, P. S., & Nagao, P. E. (2024). Vaccines for *Streptococcus agalactiae*: current status and future perspectives. *Frontiers in Immunology*, 15, 1430901.
68. Turner, P., Fox-Lewis, A., Shrestha, P., Dance, D. A., Wangrangsimakul, T., Cusack, T. P., ... & Ashley, E. A. (2019). Microbiology Investigation Criteria for Reporting Objectively (MICRO): a framework for the reporting and interpretation of clinical microbiology data. *BMC medicine*, 17, 1-8.
69. Von Elm, E., Altman, D. G., Egger, M., Pocock, S. J., Gøtzsche, P. C., & Vandenbroucke, J. P. (2007). The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *The lancet*, 370(9596), 1453-1457.
70. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 14.0, 2024. <http://www.eucast.org>.
71. Jones, N., Bohnsack, J. F., Takahashi, S., Oliver, K. A., Chan, M. S., Kunst, F., ... & Spratt, B. G. (2003). Multilocus sequence typing system for group B streptococcus. *Journal of clinical microbiology*, 41(6), 2530-2536.
72. Berger, R., Abele, H., Bahlmann, F., Bedei, I., Doubek, K., Felderhoff-Müser, U., ... & Surbek, D. (2019). Prevention and therapy of preterm birth. Guideline of the DGGG, OEGGG and SGGG (S2k Level, AWMF Registry Number 015/025, February 2019)—part 2 with recommendations on the tertiary prevention of preterm birth and the management of preterm premature rupture of membranes. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, 79(08), 813-833.
73. Money, D., & Allen, V. M. (2018). No. 298-The prevention of early-onset neonatal group B streptococcal disease. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*, 40(8), e665-e674.
74. Hughes, R. G., Brocklehurst, P., Heath, P., & Stenson, B. (2017). Prevention of early-onset neonatal group B streptococcal disease. *Bjog*, 124(12), e280-e305.

75. Poncelet-Jasserand, E., Forges, F., Varlet, M. N., Chauleur, C., Seffert, P., Siani, C., ... & Ros, A. (2013). Reduction of the use of antimicrobial drugs following the rapid detection of *Streptococcus agalactiae* in the vagina at delivery by real-time PCR assay. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 120(9), 1098-1109.
76. Parente, V., Clark, R. H., Ku, L., Fennell, C., Johnson, M., Morris, E., ... & Greenberg, R. G. (2017). Risk factors for group B streptococcal disease in neonates of mothers with negative antenatal testing. *Journal of Perinatology*, 37(2), 157-161.
77. Kalpakçı, P., Benli, A. R., Erturhan, S., & Demirel, Y. (2017). Son Trimester Gebelerin Rektovajinal Grup B Streptokok Koloni Sıklığı ve Etkileyen Faktörler. *Çağdaş Tıp Dergisi*, 7(2), 160-167.
78. Dillon Jr, H. C., Gray, E., Pass, M. A., & Gray, B. M. (1982). Anorectal and vaginal carriage of group B streptococci during pregnancy. *Journal of Infectious Diseases*, 145(6), 794-799.
79. El Aila, N. A., Tency, I., Claeys, G., Saelens, B., Cools, P., Verstraelen, H., ... & Vaneechoutte, M. (2010). Comparison of different sampling techniques and of different culture methods for detection of group B streptococcus carriage in pregnant women. *BMC infectious diseases*, 10, 1-8.
80. Bidgani, S., Navidifar, T., Najafian, M., & Amin, M. (2016). Comparison of group B streptococci colonization in vaginal and rectal specimens by culture method and polymerase chain reaction technique. *Journal of the Chinese medical association*, 79(3), 141-145.
81. Kadanali, A., Altoparlak, Ü., & Kadanali, S. (2005). Maternal carriage and neonatal colonisation of group B streptococcus in eastern Turkey: prevalence, risk factors and antimicrobial resistance. *International journal of clinical practice*, 59(4), 437-440.
82. Peng, J., Liu, Y., Zou, J., Wang, J., Dominguez, C., Luis, J., & Zhong, H. (2024). Accuracy of real-time polymerase chain reaction test for Group B Streptococcus detection in pregnant women: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*.
83. Shin, J. H., & Pride, D. T. (2019). Comparison of three nucleic acid amplification tests and culture for detection of group B Streptococcus from enrichment broth. *Journal of Clinical Microbiology*, 57(6), 10-1128.
84. Feuerschuetz, O. H. M., Silveira, S. K., Cangelier, A. C. L., da Silva, R. M., Trevisol, D. J., & Pereira, J. R. (2018). Diagnostic yield of real-time polymerase chain reaction in the diagnosis of intrapartum maternal rectovaginal colonization by group B Streptococcus: a systematic review with meta-analysis. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 91(2), 99-104.
85. Caballero Méndez, A., Reynoso de la Rosa, R. A., Abreu Bencosme, M. E., Sosa Ortiz, M. N., Pichardo Beltré, E., de la Cruz García, D. M., ... & Bacalhau de León, J. C. (2024). Development and performance evaluation of a qPCR-based assay for the fully automated detection of group B Streptococcus (GBS) on the Panther Fusion Open Access system. *Microbiology Spectrum*, 12(6), e00057-24.
86. Nielsen, S. Y., Møller, J. K., & Khalil, M. R. (2020). A comparison of GenomEra® GBS PCR and GeneXpert® GBS PCR assays with culture of GBS performed with and without broth pre-enrichment. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 39, 1945-1950.

87. Wang, F., Yi, L., Ming, F., Dong, R., Wang, F., Chen, R., ... & Wu, L. (2024). Evaluation of the Xpert Xpress GBS test for rapid detection of group B Streptococcus in pregnant women. *Microbiology Spectrum*, 12(1), e02206-23.
88. Vieira, L. L., Perez, A. V., Machado, M. M., Kayser, M. L., Vettori, D. V., Alegretti, A. P., ... & Valério, E. G. (2019). Group B Streptococcus detection in pregnant women: comparison of qPCR assay, culture, and the Xpert GBS rapid test. *BMC pregnancy and childbirth*, 19, 1-8.
89. Cools, P., Jaspers, V., Hardy, L., Crucitti, T., Delany-Moretlwe, S., Mwaura, M., ... & Vaneechoutte, M. (2016). A multi-country cross-sectional study of vaginal carriage of group B streptococci (GBS) and *Escherichia coli* in resource-poor settings: prevalences and risk factors. *PloS one*, 11(1), e0148052.
90. Esmaon, R., Lim, B. K., Gan, F., Hamdan, M., & Tan, P. C. (2024). Sexual activity, vaginal symptoms, maternal perineal hygiene behavior, and constipation on ano-vaginal colonization of group B streptococcus in near term pregnancy. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 24(1), 461.
91. Hsu, J. F., Lu, J. J., Chu, S. M., Lee, W. J., Huang, H. R., Chiang, M. C., ... & Tsai, M. H. (2023). The Clinical and Genetic Characteristics of *Streptococcus agalactiae* Meningitis in Neonates. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(20), 15387.
92. Aktaş, E., Malkoçoğlu, G., Bayraktar, B., Otlu, B., & Bulut, M. E. (2015). Klinik örneklerden izole edilen Grup B streptokokların “multilokus sekans tipleme” ile tiplendirilmesi ve hipervirülen ST-17 varlığının “matriks aracılı lazer dezorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanlı kütle spektrometrisi” ile araştırılması. 3. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi Bildiri Kitabı, 18-22 Kasım, Antalya, s. 146.
93. Yazıcı Özçelik, E. İdrar örneklerinden izole edilen *Streptococcus agalactiae* izolatlarının serotiplendirilmesi ve ST-17 klonunun araştırılması (Master’s thesis, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).
94. Ölçü, M., & Eşel, D. (2007). *Streptococcus agalactiae* Klinik İzolatlarında Antibiyotiklere Duyarlılık. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 16(1), 23-28.
95. Ayhancı, T., Durna, Ş., Aydemir, Ö., Köroğlu, M., & Altındış, M. (2020). Klinik Örneklerden İzole Edilen *Streptococcus agalactiae* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 4(1), 20-25.
96. Kızılyıldırım, S., & Köksal, F. A. T. İ. H. (2024). Examination of Capsule Genotypes, Antibiotic Susceptibility Profiles and Biofilm Forming Abilities of Group B Streptococcus Isolates Isolated from Pregnant Women Gebe Kadınlardan İzole Edilen Grup B Streptokok İzolatlarının, Kapsül Genotipleri, Antibiyotik Duyarlılık Profilleri ve Biyofilm Oluşturma Yeteneklerinin İncelenmesi. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 58(4).