

Aus der Abteilung für Epidemiologie
des
Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung, Braunschweig

Group B Streptococci Infections
Declining Incidence in Infants in Germany

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
in der
Medizinischen Hochschule Hannover

vorgelegt von Esther Wicker
aus Berlin

Hannover 2021

Angenommen vom Senat am 20.06.2022

Gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Hochschule Hannover

Präsident: Prof. Dr. med. Michael P. Manns

Betreuer/in der Arbeit: Prof. Dr. med. Gérard Krause

1. Referent/in: Prof. Dr. med. Susanne Häußler
2. Referent/in: Prof. Dr. med. Bettina Bohnhorst

Tag der mündlichen Prüfung: 20.06.2022

Prüfungsausschuss

Vorsitz: Prof. Dr. med. Hans-Heinrich Kreipe

1. Prüfer/in: PD Dr. med. Albert Heim

2. Prüfer/in: Prof. Dr. med. Andreas Klos

Inhaltsverzeichnis

1	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	2
2	Abkürzungsverzeichnis	3
3	Originalpublikation	4
4	Abstract	8
5	Zusammenfassung.....	9
5.1	Einleitung.....	9
5.2	Methoden.....	11
5.3	Ergebnisse	17
5.4	Diskussion.....	21
6	Literaturverzeichnis	30
7	Anhang.....	38
7.1	Anhang A: Initiales Anschreiben.....	38
7.2	Anhang B: Teilnahmeerklärung.....	40
7.3	Anhang C: Monatliches Anschreiben	41
7.4	Anhang D: Fragebogen	42
7.5	Anhang E: Monatsabfrage.....	43
8	Lebenslauf.....	44
9	Publikationsliste.....	45
10	Volltextpublikationen mit Co-Autorenschaft	47
11	Erklärung nach § 2 Abs. 2 Nr. 7 und 8 der Promotionsordnung.....	57
12	Danksagung	58

1 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Gründe für die Ablehnung einer Studienteilnahme 17

Abbildung 2: Anzahl der teilnehmenden Labore pro Bundesland 17

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Kategorien des Matchings mit den jeweiligen Kombinationsvarianten aus übereinstimmenden und abweichenden Variablen der GBS-Meldungen mit den zugehörigen Fallzahlen 18

Tabelle 2: Anzahl der durch das RKI, die ESPED und gemeinsam erfassten GBS-Fälle nach männlich (M), weiblich (W), unbekanntes Geschlecht (unb.) bzw. keine Angabe (k.A.) nach Monat und Jahr 19

Tabelle 3: Beispiele für die Prüfung der Sensitivität (%) verschiedener ESPED-Erfassungen unter Anwendung der CRM mit einer 2. Datenquelle 24

Tabelle 4: Fallzahlen der Erfassung neonataler GBS-Infektionen durch ESPED nach Alter zum Erkrankungszeitpunkt für die Jahre 2008-2010 25

2 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
CDC	Center of Disease Control and Prevention
CI	Konfidenzintervall
CPS	Polysaccharidkapsel (capsular polysaccharide)
CRM	Capture-Recapture-Methode
DGGG	Deutsche Gesellschaft für pädiatrische Gynäkologie und Geburtshilfe e.V.
DGPM	Deutschen Gesellschaft für Perinatale Medizin
EOD	Early-onset disease (0-6 Tage)
ESPED	Erhebungseinheit für seltene pädiatrische Erkrankungen in Deutschland
GBS	Gruppe B-Streptokokken, <i>Streptococcus agalactiae</i>
IAP	subpartale, intravenöse Antibiotikaprophylaxe (intrapartum antibiotic prophylaxis)
IfSG	Infektionsschutzgesetz
IGeL	Individuelle Gesundheitsleistungen
LLOD	Late late-onset disease (3-6 Monate)
LOD	Late-onset disease (7-90 Tage)
PCR	Polymerase Kettenreaktion (polymerase chain reaction)
PLZ	Postleitzahl
RKI	Robert Koch-Instituts
SSW	Schwangerschaftswoche

Group B Streptococci

Declining Incidence in Infants in Germany

Esther Wicker, MD,*† Fabian Lander, MD,‡ Felix Weidemann, PhD,† Markus Hufnagel, MD,§
Reinhard Berner, MD,‡ and Gérard Krause, MD¶||**

Abstract: Group B streptococcus (GBS) is a leading cause of morbidity and mortality in newborns worldwide. From 2000 to 2008, national guidelines in Germany recommended intrapartum antibiotic prophylaxis for pregnant women displaying risk factors (eg, perinatal anogenital GBS colonization, rupture of the membranes ≥ 18 hours before birth) for the vertical transmission of GBS to their children. In 2008, these guidelines were revised to advocate universal, culture-based screening for GBS colonization among all pregnant women between 35 and 37 weeks of gestation. For the period 2009–2010, our prospective active surveillance study assessed the incidence of invasive GBS infections in infants 0–90 days of age in Germany. We did this by means of a capture–recapture analysis of 2 separate, independent systems (pediatric reporting versus laboratory reporting). We compared our results with those from a previous study by employing an equivalent design (2001–2003). We detected a 32% reduction in GBS incidence, from 0.47 per 1000 live births (n = 679) in 2001–2003 to 0.34 per 1000 live births (n = 450) in 2009–2010. This decline primarily is tied to a reduced number of GBS cases in children under 1 week of age. In 2009–2010, the ratio of early-onset disease to late-onset disease reversed from 1.52 (206:136), as determined in 2001–2003, to 0.75 (92:122). This study is the first to assess changes in the incidence of invasive GBS in Germany after the implementation of the guidelines for intrapartum prophylaxis for pregnant women colonized with GBS.

Key Words: invasive streptococcal infections, streptococcus agalactiae, incidence, neonatal, infant, Germany, capture–recapture method

(*Pediatr Infect Dis J* 2019;38:516–519)

Group B streptococcus (GBS), also known as *Streptococcus agalactiae*, is a common commensal of the gastrointestinal tract and can be isolated from the vagino-rectal tract in approximately 1-quarter of pregnant women.¹

With a global mean incidence in infants 0–89 days of age of 0.53 per 1000 live births (95% confidence interval 0.44–0.62), GBS is recognized as the leading cause of neonatal sepsis.² Infant GBS infection is usually subdivided in 2 groups: early-onset disease (EOD) occurring at 0–6 days of age and late-onset disease (LOD) occurring at 7–90 days of age. The major risk factor for EOD is

maternal colonization with GBS in the genitourinary or gastrointestinal tracts.^{1,3} In approximately 50% of cases, GBS is likely to have been transferred to the fetus from aspiration of amniotic fluid infected with ascending bacteria.⁴

A prospective active surveillance study based on capture–recapture analysis—a study involving laboratories and pediatric hospitals from across Germany from 2001 to 2003—calculated an incidence of 0.47 infant invasive GBS (iGBS) infections per 1000 live births.⁵ Along with reports from the Netherlands (EOD 0.36 and LOD 0.14 per 1000 live births in 1999/2001 and in total 0.56 per 1000 live births in 1997–2001) and England (EOD 0.48, LOD 0.24 and total 0.72 per 1000 live births in 2000/2001) that related to the same time period, this German study published nationwide data on the incidence of infant GBS sepsis in Europe.^{6,7} Intrapartum antibiotic prophylaxis (IAP) has been shown to significantly reduce the incidence of EOD.³ Pregnant women at risk for vertically transmitting GBS and who are eligible for IAP can be identified by either clinical risk factors or by detection of GBS colonization via culture-based screening.³ In Germany, from 2000 to 2008, guidelines recommended 2 alternative strategies: (a) screening-based intrapartum antimicrobial prophylaxis and (b) a risk factor–based approach.

Risk factors are perinatal anogenital GBS colonization, bacteriuria, rupture of the membranes ≥ 18 hours before birth, fever $\geq 38^\circ\text{C}$ during delivery, premature birth < 37 weeks gestation and previous delivery of a child suffering from GBS infection.⁸

In the United States, new guidelines recommending a universal, culture-based GBS screening were introduced in 2002, resulting in significant decrease of neonatal iGBS.^{9,10} This decrease was the main reason for the implementation of revised guidelines in Germany in 2008. The most important change was the recommendation of a universal, culture-based screening for all pregnant women between 35 and 37 weeks of gestation, along with the restriction of the risk factor approach for women whose screening results were not available.¹¹ Since 2008, however, there have not been any continuous surveillance systems put in place in Germany that would allow for the assessment of the impact of these revised guidelines.^{12,13}

Therefore, the objective of our follow-up study was to detect and analyze potential changes in the incidence of invasive infant GBS infections before (2001–2003) versus after (2009–2010) the implementation of the revised guidelines for prevention of infant GBS disease in Germany.

METHODS

Case Definition

A case of invasive GBS infections was defined as an isolation of GBS in any sample obtained from a normally sterile body site (eg, blood, cerebrospinal fluid) in infants ≤ 90 days of age during the period January 1, 2009, to December 31, 2010, in Germany.

Study Design

In the current, prospective active surveillance study, we applied the same study design and methods as had been used in the

Accepted for publication May 10, 2018.

From the *Department of Anaesthesiology and Operative Intensive Care Medicine, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Germany; †Robert Koch-Institute Germany, Berlin, Germany; ‡Department of Pediatrics, University Hospital Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden, Dresden, Germany; §Department of Pediatrics, University Medical Center Freiburg, Freiburg, Germany; ¶Epidemiology Department, Helmholtz Centre for Infection Research, Braunschweig, Germany; ||Institute for Infectious Disease Epidemiology, TWINCORE, Hannover, Germany; and **Translational Infrastructure Epidemiology, German Centre for Infection Research (DZIF), Germany. The authors have no funding or conflicts of interest to disclose.

Address for correspondence: Gérard Krause, MD, Epidemiology Department, Helmholtz Centre for Infection Research, Inhoffenstraße 7, 38124 Braunschweig, Germany. E-mail: Gerard.Krause@helmholtz-hzi.de.

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

ISSN: 0891-3668/19/3805-0516

DOI: 10.1097/INF.0000000000002115

preceding 2001–2003 study. We collected and matched data regarding invasive GBS infections from 2 separate, independent sources.

German Pediatric Surveillance Unit/Survey of Rare Diseases

The first data source was the German Pediatric Surveillance Survey of rare diseases. For this, monthly reporting forms were sent to the staff coordinators at pediatric departments across Germany (pediatric reporting). Pediatric hospitals either provided notification of new cases of invasive GBS infection or else they opted for zero reporting.

Robert Koch Institute

Microbiology laboratories across Germany provided the second source of data on invasive infant GBS infections. These labs were identified through (a) laboratory directories at the Robert Koch Institute (RKI; the German National Public Health Institute), (b) the laboratory directory from the preceding study (2001–2003) and (c) a systematic search of the German national digital Yellow Pages (DeTeMedien GmbH, Frankfurt; <http://www.gelbeseiten.de>).

Once we had identified a list of laboratories, we sent them a description of our surveillance project and invited them to submit monthly reports of infant GBS infections, including zero reports (laboratory reporting). Before submitting data, laboratories undertook a pseudonymization of patient identities—a procedure approved by the RKI's data confidentiality officer.

We did not apply any selection procedure with respect to geography or other eligibility criteria for reporting institutions.

Data Analysis

Before merging the data from our 2 independent sources, we examined the inclusion criteria and eliminated double reports and false-positive reports (ie, false age, obtained outside the study period, isolation of GBS from no sterile body site). If a case returned more than 2 cultures as positive for GBS in under 30 days, only the first report was counted. We manually matched the reports based on the following criteria: first/second initials of patient's name; date of birth (month and year); sex; first 3 digits of the patient's postal code (home address); and the date of illness onset (day, month, year).

Statistical Methods

We applied a two-sample, capture–recapture method (CRM) to account for incomplete case collection within both sources, as well as to predict the number of unobserved individuals.^{14,15} Our method assumed that “captured” cases in one data set of the underlying population were “recaptured” by appearing in one (or more) other data sets. Conditions we considered to be mandatory were (a) the cases had to be true cases and be marked by unique personal identifiers so that we could match cases from different sources; (b) the sources had to be independent; (c) the probability of being captured had to be the same for all cases. Our study design complied with all three of these conditions.

After completing stratification by age and sex, we applied a Bayesian approach for the capture–recapture–based estimation of the overall number of GBS cases during the study period.^{16,17} We calculated incidence rates in relation to the total number of 1,343,073 recorded live births that occurred during the 24-month period, as documented by the German Federal Statistics Office.

A separate computation of either EOD- or LOD-specific incidence by means of the CRC analysis was not possible because RKI only was allowed to receive pseudonymized data. Unfortunately, these data did not include the exact age at onset of infection.

RESULTS

During the study period, an estimated 470 pediatric in-patient departments and units were active in Germany. Of these, 445 participated in the German Pediatric Surveillance Survey of Rare Diseases survey, (ie, a 95% participation rate). The return rate for the reporting forms was >95% over the course of the entire study period.

From the list of laboratories we identified (as described above), the laboratories who had agreed to perform GBS tests in Germany ($n = 129$) were invited to join our study. Of these, 111 agreed to participate in our study (ie, a 86% participation rate). Over the course of the full study period, the return rate for the reporting forms was >95% (Table 1).

Pediatric in-patient departments and units, as well as the laboratories providing data for the study, were distributed across all 16 German states. In total, there were 226 infant GBS cases detected by the pediatric reporting system, 169 cases by laboratory reporting and 76 cases detected by both (Table 1).

Taking only pediatric reporting into account, the incidence was 0.17 (95% confidence interval [CI], 0.13–0.15) per 1000 live births, with 48.9% of patients being male (110/224, with sex being unknown in 2 cases). Through the laboratory reporting, 169 cases were detected, which corresponded to an incidence of 0.13 (95% CI, 0.11–0.15) per 1000 live births. Here, 55.7% of patients were male (93/167, with sex being unknown in 2 cases; Table 2). Data from the laboratory reporting did not allow us to distinguish between EOD and LOD cases. Via pediatric reporting, however, data regarding age at disease onset was available for 214 out of 226 cases (94.7%). Among those, 92 (43%) patients were below 7 days of age and 122 (57%) patients were 7–90 days old. The ratio of EOD to LOD was 0.75 (92:122).

Calculation by CRM estimated 450 cases (95% CI, 403–510) of infant GBS in Germany during the 2-year study period (Table 2). This was equivalent to an overall incidence of 0.34 (95% CI, 0.30–0.38) per 1000 live births for invasive GBS infections with onset ≤ 3 month of age in Germany. Calculation based on the pediatric reporting gives an incidence of 0.15 for EOD and 0.19 for LOD per 1000 live births, respectively. From this, we estimate detection sensitivity to be 50% for pediatric reporting (95% CI, 43%–58%) and 38% for laboratory reporting (95% CI, 32%–44%).

DISCUSSION

In 2009–2010, the overall incidence of invasive infant GBS infection in Germany—estimated from our nationwide surveillance study—was 0.34 per 1000 live births. This represented a significant

TABLE 1. Participation Numbers and Rates, Case Numbers and Sensitivity Arranged by the 2 Data Sources (ESPED, RKI)

	Pediatric Reporting System (ESPED)	Laboratory Reporting System (RKI)
Total number of potential participants in the study	470	129
Total number of participants (%)	445 (95)	111 (86)
Total number of case reports	226	169
Female	114	74
Male	110	93
Incidence	0.17	0.13
Sensitivity [CI] (%)	50 [43–58]	38 [32–44]

CI indicates confidence interval; ESPED, German Paediatric Surveillance Unit/Survey of rare diseases; RKI, Robert Koch-Institute

TABLE 2. Number of Recorded Neonatal Invasive GBS Cases in Germany From 2009 to 2010, as Reported by the Laboratory Reporting System (RKI) and the Pediatric Reporting System (ESPED), in Addition to the Estimated Total Number of Neonatal GBS Infection After the CRM

No. of RKI Cases (%)			No. of ESPED Cases (%)			CRM	
Total	Female*	Male*	Total	Female*	Male*	No. of Matched Cases	No. of Estimated Cases (95% CI)
169	74 (44, 3)	93 (55, 7)	226	115 (51, 3)	109 (48, 7)	76	450 (403–510)

*Two cases from each data system (RKI, ESPED) needed to be excluded from this analysis because of missing data on sex.

CI indicates credibility interval; CRM, capture–recapture method; ESPED, German Pediatric Surveillance Unit/ Survey of rare diseases; RKI, Robert Koch-Institute.

32% decline in incidence as compared with the period 2001–2003 (0.47 per 1000 live births). According to the pediatric reporting system, the absolute numbers of GBS cases with LOD was stable ($n = 136$ in 2001–2003; $n = 122$ in 2009–2010), whereas the number of EOD cases decreased considerably ($n = 206$ in 2001–2003 to $n = 92$ in 2009–2010). In 2009–2010, the ratio of EOD to LOD reversed from 1.52 (206:136), as determined in 2001–2003, to 0.75 (92:122). Based on this analysis, we conclude that the reduced incidence of infant invasive GBS disease mainly can be attributed to the decline in EOD cases.

In the United States, GBS guidelines first issued in 1996 implemented a risk-based approach. They were revised in 2002 to a screening-based IAP approach.

Implementing these guidelines resulted in a decrease in the incidence of EOD from 1.7 per 1000 live births in 1990 to 0.25 by 2010 (1999–2001: 0.47 and 2003: 0.32 per 1000 live births).³

Some European countries have supported a risk factor-based IAP approach that has received differing results: in England, for example, when a risk factor approach was introduced in November 2003, a slight increase of the incidence of infant GBS infections was detected (0.35 per 1000 live births in 2003 to 0.41 in 2010).¹⁸ In the Netherlands, where a risk factor approach also was applied, a 60% increase in the incidence of infant GBS infections resulted (1987: 0.20 and 2011: 0.32 per 1000 live births).¹⁹

In New Zealand, by contrast, the incidence of EOD GBS disease was reduced by more than half after the implementation of a single, risk-based approach (0.5 per 1000 live births in 1998–1999 to 0.23 in 2009–2011).²⁰ This New Zealand example demonstrates that the increase of EOD GBS disease may not be the result of a single measure (ie, risk factor-based vs. screening-based approach) but rather the consequence of bundling prevention and treatment. Here, the reduced incidence primarily was the outcome of having promoted a universally accepted guideline—one that reduced both confusion and treatment errors.

When considering the decline in infant GBS infections in Germany in relation to the newly implemented, culture-based universal screening approach, several additional factors should be taken into account. First, in Germany, GBS screening is optional. It is not reimbursed by either public or private health insurance. This may significantly limit adherence to recommended guidelines. In 2011–2012, a cohort study revealed participation rates for prenatal GBS screening in the southwest of Germany to be 68.1%. This rate was considerably lower than that reported in the United States during 2003–2004 (85%).²¹ However, Kunze et al²¹ have found an increase of IAP among GBS-positive pregnant women in their German cohort—one that increased from 39% in 2003–2004 to 89% in 2011–2012. This indicates a significant change in intrapartum management and supports the assumption that Germany's new GBS screening policy has played a role in the declining incidence.^{21,22}

As a second point, changes in the sensitivity of the 2 assessment procedures may have occurred between the time periods 2001–2003 and 2009–2010. However, major changes in this respect seem unlikely because the data collection procedures, as well as the relevant variables in the assessment forms, were identical during both periods. Nevertheless, to account for any under-detection or varying sensitivity of single data sources, we purposefully used a capture–recapture-based estimation.

Third, the validity of the CRM relies upon the independence of our 2 data sources. In our setting, this was fairly guaranteed because one source was from pediatric hospitals and the other from microbiologic laboratories. According to our case definition (culture-proven cases), the probability of being captured should be the same for all cases. Furthermore, participants from both data sources were fairly evenly distributed across all 16 German states. The total number of participants on the laboratory-based reporting system is lower than the number of participants on the hospital-based reporting system. The reason is that not every hospital in Germany has its own laboratory. There are rather big central laboratories serving several hospitals. The lower sensitivity of the laboratory reporting system is likely because of the lower participation rates among laboratories in our study.

Fourth, given our multisided approach to identifying and recruiting laboratories across Germany, we believe our laboratory list to have been sufficiently comprehensive, with laboratories from the preceding study also likely to have been participants in the current study. At a minimum, wide disparities in participation appear unlikely, as the laboratories' 85% participation rate speaks for their representativeness.

Several limitations of our study may be outlined. Because laboratory reporting does not provide clinical information, data on EOD and LOD are only available by means of the pediatric reporting system. For this reason, it was not possible to estimate the overall incidence of EOD and LOD for GBS via the CRM. However, assuming the sensitivity of the pediatric reporting to be equal for both EOD and LOD cases, the analysis would yield an estimated incidence of iGBS at 0.15 for EOD and 0.19 for LOD per 1000 live births, respectively. Finally, survey data was available only from a restricted, 2-year time span and not continuously from 2003 to 2012. Nevertheless, short-term fluctuations in GBS incidence were not witnessed during the 2-year observation period, a fact suggesting that the 2 measurements represent a true difference. Because our findings were based on culture-confirmed cases, theoretically, the observed decline could be the consequence of a decrease in culture-positive rates—one related to increased numbers of infants becoming exposed to antibiotics as a result of the new screening approach.

In conclusion, our analysis indicates a 32% decline in cases of infant-invasive GBS infection between the years 2003 and 2010

in Germany—a change due primarily to a decline in EOD cases. This suggests that the recommendation for universal GBS screening for all pregnant women between 35 and 37 weeks gestation has contributed to this decline. Given the lack of both contradictory evidence and alternative explanations, we argue that the guideline for universal GBS screening should continue to be maintained.

ACKNOWLEDGMENT

We thank Natalie Diffloth for her English language editing of the article.

REFERENCES

- Schuchat A. Epidemiology of group B streptococcal disease in the United States: shifting paradigms. *Clin Microbiol Rev*. 1998;11:497–513.
- Edmond KM, Kortsalioudaki C, Scott S, et al. Group B streptococcal disease in infants aged younger than 3 months: systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2012;379:547–556.
- Verani JR, McGee L, Schrag SJ; Division of Bacterial Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of perinatal group B streptococcal disease—revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR Recomm Rep*. 2010;59(RR-10):1–36.
- Katz VL, Moos MK, Cefalo RC, et al. Group B streptococci: results of a protocol of antepartum screening and intrapartum treatment. *Am J Obstet Gynecol*. 1994;170:521–526.
- Fluegge K, Siedler A, Heinrich B, et al.; German Pediatric Surveillance Unit Study Group. Incidence and clinical presentation of invasive neonatal group B streptococcal infections in Germany. *Pediatrics*. 2006;117:e1139–e1145.
- Trijbels-Smeulders M, de Jonge GA, Pasker-de Jong PC, Gerards LJ, Adriaanse AH, van Lingen RA, et al. Epidemiology of neonatal group B streptococcal disease in the Netherlands before and after introduction of guidelines for prevention. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2007;92:F271–F276.
- Heath PT, Balfour G, Weisner AM, et al.; PHLS Group B Streptococcus Working Group. Group B streptococcal disease in UK and Irish infants younger than 90 days. *Lancet*. 2004;363:292–294.
- Martius J, Hoyme UB, Roos R, Jorch G. Leitlinien 2000-2008: Empfehlungen zur Prophylaxe der Neugeborenensepsis (frühe Form) durch Streptokokken der Gruppe B. *Frauenarzt*. 2000;41:689–691.
- American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Committee Opinion: number 297, December 2002. Prevention of early-onset group B streptococcal disease in newborns. *Obstet Gynecol*. 2002;100:1405–1412.
- Schrag SJ, Zell ER, Lynfield R, et al. A population-based comparison of strategies to prevent early-onset Group B streptococcal disease in neonates. *N Engl J Med*. 2002;347:233–39.
- Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie e.V. Berlin: S2k Prophylaxe der Neugeborenensepsis – frühe Form – durch Streptokokken der Gruppe B; c1996 [updated July 1, 2008, cited January 25, 2016]. DGPI (AWMF)-Leitlinien. Available from: dgpi.de/publikationen/awmf.
- Poggensee G, Benzler J, Eckmanns T, Krause G. On the 2007 edition of case definitions for the surveillance of notifiable infectious diseases in Germany. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2006;49(12):1189–1194.
- Ammon A, Faensen D. [Surveillance of infectious diseases at the EU level]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2009;52:176–182.
- Schrauder A, Claus H, Elias J, et al. Capture-recapture analysis to estimate the incidence of invasive meningococcal disease in Germany, 2003. *Epidemiol Infect*. 2007;135:657–664.
- Jones HE, Hickman M, Welton NJ, et al. Recapture or precapture? Fallibility of standard capture-recapture methods in the presence of referrals between sources. *Am J Epidemiol*. 2014;179:1383–1393.
- Wang X, He CZ, Sun D. Bayesian population estimation for small sample capture-recapture data using noninformative priors. *J Stat Plan Inference*. 2007;137:1099–1118.
- George EI, Robert CP. Capture-recapture estimation via Gibbs sampling. *Biometrika*. 1992;79:677–683.
- Lamagni TL, Keshishian C, Efstratiou A, et al. Emerging trends in the epidemiology of invasive group B streptococcal disease in England and Wales, 1991-2010. *Clin Infect Dis*. 2013;57:682–688.
- Bekker V, Bijlsma MW, van de Beek D, et al. Incidence of invasive group B streptococcal disease and pathogen genotype distribution in newborn babies in the Netherlands over 25 years: a nationwide surveillance study. *Lancet Infect Dis*. 2014;14:1083–1089.
- Darlow BA, Voss L, Lennon DR, et al. Early-onset neonatal group B streptococcus seps following national risk-based prevention guidelines. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2016;56:69–74.
- Kunze M, Zumstein K, Markfeld-Erol F, et al. Comparison of pre- and intrapartum screening of group B streptococci and adherence to screening guidelines: a cohort study. *Eur J Pediatr*. 2015;174:827–835.
- Kunze M, Ziegler A, Fluegge K, et al. Colonization, serotypes and transmission rates of group B streptococci in pregnant women and their infants born at a single University Center in Germany. *J Perinat Med*. 2011;39:417–422.

Streptokokken der Serogruppe B (GBS) gehören zu den häufigsten Verursachern der neonatalen Sepsis und Meningitis. Da diese GBS-assoziierten Infektionen mit hoher Morbidität und Mortalität einhergehen, hat die Entwicklung effektiver Präventionsstrategien einen hohen Stellenwert.

Die Fallzahlen neonataler GBS-Infektionen konnten durch die in den 1980er eingeführte intrapartale Antibiotika-Prophylaxe (IAP) bei Vorliegen bestimmter Risikofaktoren (z.B. bei einem vorzeitigen Blasensprung) reduziert werden (sogenannte Risikostrategie). Im Jahr 2002 wurden in den USA neue Leitlinien mit Empfehlung der IAP in Verbindung mit einem universellen GBS-Screening aller Schwangeren implementiert (sogenannte Teststrategie). Dies führte zu einer signifikanten Reduktion von invasiven GBS-Infektionen bei Neugeborenen in den ersten Lebenstagen. In Deutschland wird diese screeningbasierte IAP seit 2008 empfohlen. Bisher lagen keine Daten darüber vor, wie sich die Inzidenz neonataler GBS-Infektionen in Deutschland seither verändert hat.

Im Rahmen der vorliegenden prospektiven Surveillance-Studie wurden neonatale invasive Gruppe B-Streptokokken über einen Zeitraum von zwei Jahren (2009-2011) deutschlandweit erfasst. Ziel war es, Änderungen der Fallzahlen neonataler GBS-Erkrankungen seit Implementierung der S1-Leitlinie „Sepsis bei Neugeborenen - frühe Form - durch Streptokokken der Gruppe B, Prophylaxe“ von 2008 in Deutschland zu quantifizieren. Die gewonnenen Daten ließen sich mit den bereits vorhandenen Daten einer zweijährigen Studie von 2001-2003 vergleichen und konnten vor dem Hintergrund der Neuordnung der Präventionsstrategien betrachtet werden.

Zum einen wurde dafür das bestehende Meldesystem „Erhebungseinheit für seltene pädiatrische Erkrankungen“ (ESPED) genutzt, das auf einer Klinikabfrage basiert, und zum anderen wurde dafür eigens ein laborbasiertes Meldesystem am Robert Koch-Institut (RKI) entwickelt. Durch Anwendung der Capture-Recapture-Methode konnten die Daten der voneinander unabhängigen Erfassungssysteme (ESPED und RKI) analysiert und mit den Daten aus den Jahren 2001-2003 verglichen werden. Die gewonnenen Daten ermöglichten die valide Schätzung der betroffenen Populationsgröße sowie der Vollständigkeit der Erfassung neonataler GBS-Infektionen durch die ESPED.

Im Hauptergebnis lässt sich festhalten, dass die Inzidenz invasiver GBS-Infektionen bei Neugeborenen im Vergleich zur Studie von 2001–2003 um ein Drittel gesunken ist. Dieser Rückgang war in erster Linie auf die Abnahme der GBS-Erkrankungen bei Neugeborenen innerhalb der ersten sieben Lebenstage (Early-onset disease) zurückzuführen. Dieses Ergebnis lieferte einen wichtigen Beitrag im weltweiten Diskurs über Vor- und Nachteile der Teststrategie im Vergleich zur Risikostrategie. Als etabliertes Instrument für das Monitoring seltener pädiatrischer Erkrankungen in Deutschland blieb die Sensitivität der ESPED stabil.

Neben den hier dargestellten Ergebnissen aus meiner Publikation mit Erstautorenschaft wurden in der zweijährigen Surveillance-Studie weitere Informationen zur Klärung elementarer Fragestellungen im unmittelbaren Wirkungskreis invasiver Gruppe B-Streptokokken gesammelt. Dazu zählten umfassende Datensätze und Proben invasiver GBS-Infektionen und neonataler *Escherichia coli*-Infektionen sowie deren Untersuchungen auf Resistenzentwicklung und spezifische Oberflächenstrukturen wie Pilus-Antigene und Polysaccharidhüllen. Letztere sind für die Entwicklung potentieller Impfstoffe von enormer Bedeutung. Zudem lieferte diese prospektive Surveillance-Studie erstmalig eine epidemiologische und mikrobiologische Darstellung des Krankheitsbildes bei Erwachsenen deutschlandweit und hat Eingang in den weltweit stattfindenden Wissenschaftsaustausch gefunden.

5 Zusammenfassung

5.1 Einleitung

„Eine Infektion des Neugeborenen mit diesen Keimen ist eine katastrophale Erkrankung.“

So bewertete der ehemalige Vorsitzende der Arbeitsgemeinschaft für Infektionen und Infektionsimmunologie der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG) Ioannis Mylonas die medizinische Bedeutung neonataler Infektionen mit Gruppe B-Streptokokken gegenüber dem Deutschen Ärzteblatt im Juli 2017 (Deutsches Ärzteblatt, 2017).

Gruppe B-Streptokokken wurden als Infektionserreger zuerst bei Kühen mit Mastitis isoliert (Minett and Stableforth, 1931). Beim Menschen lassen sich Gruppe B-Streptokokken (GBS, *Streptococcus agalactiae*) im Rektum, perianal und vaginal und seltener auch auf der Haut und im Pharynx nachweisen und scheinen geringe oder gar keine primäre pathogene Bedeutung zu haben (Edwards et al., 2011; Manning et al., 2004; Meyn et al., 2002). Weltweit sind etwa 18 % der Frauen ohne Krankheitswert GBS-kolonisiert (Russell et al., 2017). Die GBS-Kolonisation Schwangerer wurde in einer Kohortenstudie unter Einschluss von über 60.000 Geburten auf 21,6 % geschätzt (Edwards et al., 2019). Eine regionale Studie in Deutschland wies bei 16 % der Frauen (sowohl der schwangeren als auch der nicht schwangeren) eine rektal-vaginale GBS-Besiedlung nach (Brimil et al., 2006).

In den 1960er und 1970er Jahren haben erste Untersuchungen wissenschaftliche Evidenz für einen Zusammenhang zwischen der GBS-Kolonisation von Müttern und dem Auftreten von Sepsis und Meningitis bei deren Neugeborenen erbracht (Eickhoff et al., 1964; Franciosi et al., 1973; Howard and McCracken, 1974). Heute ist bekannt, dass es unter der Geburt schätzungsweise bei circa 50 % der GBS-kolonisierten Schwangeren zu einer Übertragung der GBS auf das Neugeborene kommt und davon 1-2% innerhalb der ersten Lebensstage durch invasive Gruppe B-Streptokokken (GBS) bei fehlender Antibiotikaphylaxe erkranken (Anthony et al., 1979; Baker and Barrett, 1973; Boyer and Gotoff, 1985; Committee ACOG, 2020; Edwards et al., 2011; Russell et al., 2017). GBS-induzierte neonatale Infektionen sind dabei häufig mit bleibenden Beeinträchtigungen assoziiert (Fluegge et al., 2006; Heath and Schuchat, 2007; Horváth-Puhó et al., 2021; Kohli-Lynch et al., 2017; Libster et al., 2012; Schrag et al., 2016; Schuchat, 1999). Die Sterblichkeitsrate wird auf 7-12 % geschätzt, bei vorliegenden Risikofaktoren z.B. einem geringen Geburtsgewicht und Frühgeburtlichkeit kann diese auf 20 % steigen (Edmond et al., 2012; Schrag et al., 2016). In Afrika wird die Fallsterblichkeit für neonatale GBS-Infektionen auf fast 20 % geschätzt, in Industrieländern hingegen auf etwa 5 % (Madrid et al., 2017). Einer Schätzung nach starben im Jahr 2015 weltweit 90.000 Neugeborene an einer GBS-Infektion und es könnten bis zu 3,5 Millionen Frühgeburten einer GBS-Infektion zuzuordnen sein (Seale et al., 2017).

Bei neonatalen Gruppe B-Streptokokken-Erkrankungen wird zwischen einer frühen Form, dem sogenannten Early-onset disease (EOD) und einer späten Form, dem sogenannten Late-onset disease (LOD) unterteilt. EOD tritt definitionsgemäß innerhalb der ersten sieben Lebensstage auf, meist mit frühem Symptombeginn innerhalb der ersten 24 Lebensstunden und präsentiert sich in etwa 80 % der Fälle in Form einer Sepsis und in den anderen Fällen als Meningitis oder Pneumonie, selten als Osteomyelitis oder Arthritis (Deutsche Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin, 2008; Fluegge et al., 2006; Madrid et al., 2017). Die EOD ist mit einem positiven vaginal-rektalem GBS-Abstrich bei der Mutter bzw. mit einer vertikalen Transmission der GBS von der Mutter auf das Kind unter der Geburt assoziiert, wobei die Infektion meist bereits in der Gebärmutter über das besiedelte Fruchtwasser stattfindet. Tritt eine GBS-Infektion zwischen 7. und 90. Lebenstag auf, spricht man von der LOD. Etwa die Hälfte der LOD-Fälle präsentieren sich als Meningitis, die andere Hälfte als Sepsis

(Fluegge et al., 2006; Madrid et al., 2017). Die Übertragungswege bei der LOD sind bisher weniger gut verstanden. Meist wird eine horizontale Transmission angenommen z.B. als Schmierinfektion. Nosokomiale Übertragungen, d.h. durch medizinisches Personal oder verunreinigte Geräte wurden diskutiert (Giannoni et al., 2018). Auch eine Übertragung während des Stillens von der Mutter auf das Neugeborene wurde untersucht (Zimmermann et al., 2017). Weltweit wurde die Inzidenz für EOD auf 0,41 und für LOD auf 0,26 pro 1.000 Lebendgeborene geschätzt (Madrid et al., 2017).

Die Entwicklung geeigneter Präventionsstrategien stellt einen entscheidenden klinischen Ansatz dar, um GBS-Infektionen der Neugeborenen zu verhindern. So empfahl die Standardkommission der Deutschen Gesellschaft für Perinatale Medizin (DGPM) und der Gesellschaft für pädiatrische Gynäkologie und Geburtshilfe e.V. (DGGG) 1992 eine selektive, subpartale Antibiotikaphylaxe, wenn bestimmte Risikofaktoren vorliegen (Risikostrategie). Dazu zählen eine drohende Frühgeburt (< 37+0 Schwangerschaftswoche), vorzeitige Blasensprung (≥ 18 Stunden), erhöhte Temperatur der Mutter ($\geq 38^\circ\text{C}$), GBS-Bakteriurie während der Schwangerschaft sowie ein früheres Kind, das GBS-infiziert war (Martius, 1994). Im Jahre 2000 wurden überarbeitete Leitlinien publiziert, in denen man sich neben diesem risikobezogenen Vorgehen alternativ dafür aussprach, alle Schwangeren zwischen der 35 + 0 und 37 + 0 Schwangerschaftswoche (SSW) mit einem vaginal-rektalem Abstrich auf Gruppe B-Streptokokken zu testen (Teststrategie). Bei einem positiven GBS-Nachweis im Screening wurde die subpartale, intravenöse Antibiotikaphylaxe (IAP; intrapartum antibiotic prophylaxis) empfohlen (Martius et al., 2000). Beide Vorgehensweisen wurden als gleichwertig betrachtet. Die Frage, ob die Teststrategie im Vergleich zur Risikostrategie effektiver ist, blieb offen.

Nachdem in den USA das Center of Disease Control and Prevention (CDC) noch 1996 eine selektive, risikobasierte IAP empfohlen hatte, wurden 2002 die Leitlinien aktualisiert und befürworteten nun eine screeningbasierte IAP (Teststrategie) mit der Begründung, dass sich durch dieses Vorgehen die GBS-Sepsisfälle um 50 % in den ersten Lebenstagen (EOD) signifikant verringern ließen (Centers for Disease Control and Prevention, 1996; Schrag et al., 2002). Im August 2008 wurden die DGGG-Leitlinien zur „Prophylaxe von Neugeborenen-sepsis durch Streptokokken der Gruppe B“ entsprechend den amerikanischen Leitlinien angepasst (Deutsche Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin, 2008).

Aus dieser Neuordnung der klinischen Praxis ergab sich für diese Studie die Fragestellung, ob sich dadurch die Zahl neonataler GBS-Erkrankungen in Deutschland senken ließ. Hierfür untersuchte ich in meiner Arbeit Fallzahlen und Inzidenzen neonataler GBS-Infektionen im Vergleich zu einer zweijährigen prospektiven Studie, die zwischen 2001-2003 erstmals die deutschlandweite Inzidenz neonataler GBS-Fälle mithilfe der Capture-Recapture-Methode (CRM) erfasste. Mittels der Capture-Recapture-Methode (deutsch „Rückfangmethode“) lässt sich die Größe einer Population schätzen (International Working Group for Disease Monitoring Forecasting, 1995a). Diese Ergebnisse wurden 2019 mit mir als Erstautorin unter dem Titel „Group B Streptococci: Declining Incidence in Infants in Germany“ in der Fachzeitschrift „The Pediatric Infectious Disease Journal“ publiziert (Wicker et al., 2019).

5.2 Methoden

Studiendesign

Im Rahmen der vorliegenden prospektiven Surveillance-Studie wurden Daten zu invasiven GBS- und *E. coli*-Infektionen erfasst. Die zweijährige Studie wurde vom 01.01.2009 bis zum 31.12.2010 deutschlandweit durchgeführt. Die Surveillance-Studie basiert auf zwei Erfassungssystemen, die im Folgenden erläutert werden.

Pädiatrisches Erfassungssystem: ESPED

Die Erhebungseinheit für seltene pädiatrische Erkrankungen in Deutschland (ESPED) wurde 1992 gegründet. Sie arbeitet im Auftrag der Deutschen Gesellschaft für Kinderheilkunde und Jugendmedizin und wird seit Februar 1994 durch einen wissenschaftlichen Beirat begleitet. ESPED entscheidet über die Auswahl der Krankheiten, die ins Erfassungssystem aufgenommen werden (von Kries, 2001). Auf Antrag der Freiburger Arbeitsgruppe um Herrn Prof. Dr. R. Berner wurden invasive GBS- und *E. coli*-Infektionen bei Neugeborenen in die Erhebungsliste der ESPED aufgenommen.

Die ESPED arbeitet nach der folgenden Methode: Einmal im Monat verschickt die ESPED Meldekarten mit etwa 12 verschiedenen Krankheiten an die teilnehmenden Kinderkliniken. Die Karten werden auch dann zurückgeschickt, wenn keine der abgefragten Krankheiten aufgetreten sind. Wurde über die Meldekarte eine der aufgeführten Krankheiten an ESPED gemeldet, so verschickt der jeweilige Studienleiter den dazugehörigen Fragebogen an die meldende Klinik. Mithilfe des Fragebogens werden die notwendigen Daten zur Beantwortung der wissenschaftlichen Fragen, die zur Durchführung der Studie geführt haben, ermittelt (Erhebungseinheit für seltene pädiatrische Erkrankungen in Deutschland, 2008). In der vorliegenden Studie wurden durch ESPED die neonatalen Fälle invasiver GBS- und *E. coli*-Infektionen erfasst (pädiatrisches Erfassungssystem).

Zusätzlich wurden die an die ESPED meldenden Kinderkliniken darum gebeten, dass ihre mikrobiologischen Labore Probenmaterialien der positiv getesteten Fälle an das bakteriologische Labor des Zentrums für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikums Freiburg senden. In diesem Labor führte die Freiburger Arbeitsgruppe weitere Untersuchungen an diesen Proben durch (Pilus-, Serootypisierungen, Resistenztestungen der GBS- bzw. der *E. coli*-Isolate).

Laborbasiertes Erfassungssystem: RKI

Das Robert Koch-Institut (RKI) - die zentrale Einrichtung der Bundesregierung auf dem Gebiet der Krankheitsüberwachung und -prävention - war die zweite unabhängige Quelle für die Datenerhebung. Hierfür wurde ein neues Erfassungssystem in der infektionsepidemiologischen Abteilung des RKI im Rahmen meiner Arbeit etabliert. Deutschlandweit wurden Labore akquiriert, um positive Nachweise invasiver GBS- und *E. coli*-Infektionen bei Neugeborenen an das RKI zu melden (laborbasiertes Erfassungssystem).

Darüber hinaus wurde diese laborbasierte Erfassung von invasiven GBS-Infektionen nicht nur auf Neugeborene beschränkt, sondern auf alle Altersgruppen ausgeweitet.

Voraussetzung für die deutschlandweite laborbasierte Erfassung invasiver GBS- und *E. coli*-Infektionen war eine Adressliste der mikrobiologischen Labore. Diese musste für die spezifische Fragestellung der vorliegenden Surveillance-Studie erstellt werden. Für die Identifikation der studienrelevanten Labore

wurden zunächst die nationalen Labordatenbanken des RKI (Pneumo-, Adress-, IfSG-, ESPED-Datenbank) zusammengefügt und hinsichtlich der Durchführung mikrobiologischer Untersuchungen ausgewählt. Ergänzende Anrufe bzw. Sichtungen der Internetpräsenzen der Labore dienten der Überprüfung, ob mikrobiologische Untersuchungen in den entsprechenden Laboren durchgeführt wurden. Zudem wurden durch Screening der Straßennamen und der Städte Anschriften mit konformen Angaben herausgefiltert. Am Ende resultierte daraus eine studienspezifische Laborliste basierend auf den nationalen Labordatenbanken des RKI.

Anschließend wurde ein zweiter Datensatz von Klinik- und Krankenhaus-Laboren basierend auf der elektronischen Datenbank Gelben Seiten® angelegt. Die Branche „Krankenhäuser und Kliniken“ wurde in der Annahme ausgewählt, dass erkrankte Personen mit invasiven GBS- bzw. *E. coli*-Infektionen aufgrund der Schwere der Erkrankung i.d.R. stationär behandelt werden müssen.

Um ein ergebnisorientiertes und realisierbares Vorgehen zu gewährleisten, wurde ausschließlich nach Laboren in Großstädten gefiltert. Der Cut-off für die Berücksichtigung einer Stadt bei der Durchsicht der Gelben Seiten® lag bei 100.000 Einwohnern am Ende des Jahres 2007. Das entspricht der Definition einer Großstadt durch die internationale Statistikkonferenz 1887 (Körösi, 1887). Insgesamt traf dies auf 81 Städte innerhalb Deutschlands zu (Statistisches Bundesamt, 2007). Spezialisierte Krankenhäuser, die dem Studieninhalt eindeutig nicht entsprachen, z.B. rein psychiatrische Kliniken, wurden ausgeschlossen. Bei den verbleibenden Kliniken wurde die Internetpräsenz nach Angaben zum Labor gescreent. Wenn auf diese Weise keine Informationen zum verantwortlichen Labor ermittelt werden konnten, so wurde der Zusatz „Zentrallabor“ in den Adresskopf aufgenommen. Das initiale Anschreiben enthielt dann eine Bitte um die Weiterleitung an das zuständige mikrobiologische Labor.

Die beiden auf diese Weise generierten Labordatensätze (nationale Labordatenbank RKI, Kliniken- und Krankenhäuser-basierte Datenbank via Gelbe Seiten®) wurden nach dem oben beschriebenen Algorithmus auf Redundanz geprüft und zusammengefasst.

Alle Labore erhielten ein initiales Anschreiben, das im November und Dezember 2008 verschickt wurde. Das Anschreiben enthielt:

- Bitte um Studienteilnahme durch die mikrobiologischen Labore mit Informationen zur geplanten Studie (Anhang A)
- Musterexemplare der für die Teilnahme an der Studie monatlich auszufüllenden Dokumente
- Antwortbogen, mit dem die Labore ihre Teilnahme zusagen oder ablehnen konnten (Anhang B)

Auf dem Antwortbogen wurde weiterhin erfragt, wie viele Nachweise invasiver GBS- und *E. coli*-Infektionen es im Jahr 2007 gab. Dies diente der Einschätzung der möglichen Bedeutung des Labors für die Studie. Bei Ablehnung einer Studienteilnahme wurde um eine Begründung gebeten. In Einzelfällen wurden Labore, die ihre Teilnahme an der Studie abgelehnt hatten, nochmals telefonisch kontaktiert, um sie zu einer Teilnahme zu mobilisieren.

Die Gesamtzahl teilnehmender mikrobiologischer Labore wurde trotz Fluktuation über den Studien-Zeitraum von 2 Jahren durch Neu-Rekrutierung (via Telefonate) weitgehend konstant gehalten. Teilnehmende Labore erhielten im Januar 2009 erstmals einen monatlichen Brief vom RKI mit folgendem Inhalt:

- Anschreiben mit relevanten Angaben zum Studien-Setting (Anhang C)
- Fragebogen für Einzelfallmeldung positiver Nachweise von GBS oder *E. coli* (Anhang D)
- Monatsabfrage: Gesamtzahl der GBS- und *E. coli*-Nachweise pro Monat, ggf. Negativmeldung (Anhang E)
- Begleitschein zum Versenden von Isolaten an das Universitätsklinikum Freiburg

Den Monatsmeldebogen sollten die Labore bis zum 15. des Folgemonats an das RKI faxen. Fehlende Meldungen und Rückmeldungen wurden durch Kontaktaufnahme (i.d.R. telefonisch) vervollständigt. Folgende Variablen wurden über den Fragebogen durch die Labore erfasst:

- 1) Nachweis von *Streptococcus agalactiae* und/oder *E. coli* für den entsprechenden Beobachtungszeitraum: Ja/Nein
- 2) Geschlecht der erkrankten Person: weiblich/ männlich/ unbekannt
- 3) Datum der Probenentnahme (falls nicht verfügbar, Eingangsdatum der Probe)
- 4) Nachweismaterial: Blut/ Liquor/ Pleura-Punktat/ Unbekannt/ Sonstiges (Freitext)
- 5) Herkunft der Probe: Kinderklinik/ Unbekannt/ Sonstiges (Freitext)
- 6) Materialeinsendung an das Labor Freiburg: Ja/Nein
- 7) Untersuchungsnummer
- 8) Geburtsmonat und -jahr der erkrankten Person
- 9) 2. Buchstabe des Vor- und Nachnamens der erkrankten Person
- 10) Die ersten 3 Stellen der Postleitzahl der erkrankten Person

Dem Universitätsklinikum Freiburg gingen Proben für weitere Analysen zusammen mit dem gesonderten Begleitschein zu, auf dem die Punkte 7) - 10) aufgeführt waren, um so die über den Fragebogen gemeldeten GBS-Fälle den Proben datenschutzkonform zuordnen zu können.

Ethikvotum und Datenschutz

Im Rahmen der laborbasierten Datenerfassung des RKI wurden ausschließlich anonymisierte personenbezogene Daten erfasst, die keinen Rückschluss auf die Personenidentität zuließen. Daher waren weder eine Einverständniserklärung der Erkrankten bzw. deren Eltern, noch ein Ethikvotum erforderlich. Die über den monatlichen Fragebogen ermittelten Falldaten, wurden per Post oder per Fax direkt im Robert Koch-Institut gesammelt und in eine Kalkulationstabelle übertragen. Diese Daten waren nur den Mitarbeitenden des RKI zugänglich, die mit der Studie betraut waren. Das Studiendesign wurde vom Datenschutzbeauftragten des Robert Koch-Instituts geprüft und bewilligt.

Für die klinikbasierte (pädiatrische) und personenbezogene Datenerfassung war ein Ethikvotum der Universitätsklinik Freiburg erforderlich und lag vor (No. 216/08 und 217/08).

Falldefinition

Ein Fall einer invasiven GBS-Infektion wurde definiert als positiver Nachweis von GBS aus Proben primär steriler Körperflüssigkeiten und -gewebe (z.B. Blut, Liquor, Synovia) bei Personen jeden Alters im Studienzeitraum vom 01.01.2009 bis 31.12.2010 innerhalb Deutschlands.

Für die Falldefinition invasiver *E. coli*-Infektionen galten diese Einschlusskriterien ebenfalls, allerdings mit der Beschränkung auf Kinder in der Altersgruppe von 0 bis 90 Tagen.

Ausschlusskriterien

Fallmeldungen außerhalb Deutschlands sowie außerhalb des Studienzeitraums wurden ausgeschlossen. Beim Vorliegen von ≥ 2 GBS- oder *E. coli*-Nachweisen derselben erkrankten Person im Abstand von weniger als 30 Tagen wurde unter der Annahme, dass es sich um Kontrollanforderungen im Rahmen der gleichen Erkrankung handelt, lediglich die zuerst eingegangene Labormeldung berücksichtigt.

Datenanalysen

Die laborbasierten Fallmeldungen (RKI) bzw. die dazugehörigen Identifikationsmerkmale wurden aus den monatlichen Fragebögen extrahiert und in eine Datenbank überführt. Negativmeldungen wurden ebenfalls erfasst. Die GBS- und *E. coli*-Meldungen wurden vor Eingabe in das Datensystem auf Redundanz und Falldefinition hin geprüft. Die klinikbasierten Daten (ESPED) wurden nach einer ersten Prüfung auf doppelte oder falsche Meldungen an das RKI übermittelt.

Anhand des Geburtsmonats und -jahres wurden Altersgruppen stratifiziert:

- EOD (Early-onset disease): 0-6 Tage
- LOD (Late-onset disease): 7-90 Tage
- LLOD (Late late-onset disease): 3 bis 6 Monate
- Erwachsene: 18-39 Jahre, 40-64 Jahre, 65-79 Jahre, ab 80 Jahren

Aufgrund der anonymisierten Datenerfassung über das RKI war keine exakte Differenzierung nach EOD und LOD möglich.

Matching der Daten beider Erfassungssysteme

Nach Listung der neonatalen GBS-Fälle in einer Tabelle wurde jeder einzelne laborbasierte Fall mit Hilfe einer Matching-Tabelle schrittweise mit den klinikbasierten Fällen verglichen. Das Vorgehen beim Vergleich der Fälle wurde wiederholt durchgeführt und war genormt. In gleichbleibender Reihenfolge wurden die einzelnen Variablen einer RKI-Fallmeldung auf Übereinstimmungen mit Variablen aller ESPED-Fälle hin überprüft. Dabei war die Variablen-Reihenfolge wie folgt:

1. Postleitzahl
2. Datum der Probenentnahme bzw. alternativ Eingangsdatum (+/- 2 Tage Versandzeit)
3. 2. Buchstabe des Vornamens unter Beachtung der richtigen Reihenfolge
4. 2. Buchstabe des Nachnamens unter Beachtung der richtigen Reihenfolge
5. Jeweils 2. Buchstabe des Vor- und Nachnamens ohne Beachtung der Reihenfolge
6. Geburtsmonat und -jahr
7. Übereinstimmung einer der beiden Buchstaben (siehe Punkt 3 und 4) ohne Beachtung der richtigen Anordnung
8. Geschlecht
9. Probenmaterial

In der Matching-Tabelle eines Monats wurden identische Merkmale und abweichende Variablen jeweils eindeutig markiert. Dieses Vorgehen wurde für alle Fallmeldungen mindestens dreimal wiederholt. Übereinstimmende Fälle wurden in die beiden Kategorien „sichere Übereinstimmungen“ und „wahrscheinliche Übereinstimmungen“ eingeteilt. Die Kategorie „sichere Übereinstimmungen“ wurde unterteilt in Gruppe A und Gruppe B. Bei der Gruppe A handelte es sich um 100 % Übereinstimmungen aller Variablen zwischen einem RKI- und einem ESPED-Fall. Die Gruppe B schloss alle Fälle ein, bei denen die Anordnung der Initialen verdreht war, aber alle anderen Variablen übereinstimmten. Eine Zuordnung in die Kategorie „wahrscheinliche Übereinstimmungen“ wurde bei Kombinationen aus geringen Abweichungen oder fehlenden Angaben vorgenommen. Es ergaben sich dadurch 5 verschiedene Übereinstimmungskombinationen. Gab es eine „wahrscheinliche Übereinstimmung“, bei der die Geschlechtsangabe entweder beim RKI oder bei ESPED fehlte, so wurde das Geschlecht von der Quelle übernommen, die dazu eine Angabe machen konnte. Die Summe aus „sicheren“ und „wahrscheinlichen Übereinstimmungen“ wurde für die Capture-Recapture-Methode verwendet.

Capture-Recapture-Methode (CRM)

Das klinik- und das laborbasierte Erfassungssystem haben jeweils eine Stichprobe neonataler GBS-Fälle erfasst. Die Daten eignen sich jeweils zur qualitativen Beschreibung der Population, aber für die Schätzung der Größe dieser Population, ist eine Stichprobe allein wenig geeignet. Dennoch lässt sich auf der Basis mehrerer unvollständiger Erfassungssysteme (Stichproben) unter bestimmten Voraussetzungen die Größe einer Population schätzen. Der Ansatz hierfür ist, dass durch die Schnittmenge der Stichproben einer Population auf die quantitative Gesamtheit dieser Population geschlossen werden kann. Bezogen auf unsere Erfassungssysteme gilt folgende Grundannahme: Das Verhältnis der klinikbasierten Erfassung zur Gesamtmenge der Population entspricht näherungsweise dem Verhältnis der Schnittmenge von beiden Erfassungssystemen zur zweiten laborbasierten Erfassung. Dies bildet die mathematisch-statistische Basis der Capture-Recapture-Methode (CRM).

Es gibt eine große Vielfalt von Methoden zur Analyse von Capture-Recapture-Daten, die sich vor allem bezüglich unterschiedlicher Annahmen über die untersuchten Populationen, der Messzeitpunkte und der Variabilität der Capture-Wahrscheinlichkeiten unterscheiden (Amstrup, 2006; Gautschi and Hangartner, 2010). Im Rahmen unserer Studie galt die Annahme, dass die Populationsgröße während des Untersuchungszeitraums konstant blieb (closed population) und die Messzeitpunkte durch die parallel stattfindende Datenerhebung der beiden Erfassungssysteme quasi zeitgleich waren und damit als diskrete Variable behandelt werden konnte (discrete time models).

Im Folgenden wird das Basismodell der Capture-Recapture-Methode für einen dualen Ansatz (two-sources-attempt), also mit zwei Erfassungssystemen, kurz vorgestellt (Hook and Regal, 1995a).

Für die Schätzung der Gesamtzahl **n** einer Population gilt:

$$n = \frac{a \times b}{c}$$

Dabei bezeichnet **a** die Anzahl der Fälle, die im ersten Erfassungssystem (hier: ESPED) erfasst wurden, **b** steht für die Anzahl der Fälle, die im zweiten Erfassungssystem (hier: RKI) erfasst wurden und **c** steht für die Fälle, die durch beide Erfassungssysteme gemeinsam erfasst wurden.

Zwingende Bedingungen sind:

1. Ein Fall ist ein „echter“ Fall, der durch einmalige Merkmale identifiziert werden und so in beiden Erfassungssystemen eindeutig wiedererkannt bzw. zusammengeführt werden kann (= Matching).
2. Die Quellen, also die Erfassungssysteme, müssen voneinander unabhängig sein.
3. Die Wahrscheinlichkeit erfasst zu werden, muss für alle Fälle gleich hoch sein (Hook and Regal, 1995b).

Dieses Basismodell unterstellt, dass alle Informationen über die untersuchte Population in den erhobenen Daten stecken. Im Falle der neonatalen GBS-Infektionen gab es jedoch bereits eine Vorgängeruntersuchung 2001-2003 mit einem äquivalenten Studiendesign. Anhand des Basismodells der CRM wurde damals bereits eine Gesamtzahl der Population geschätzt. Es gibt also bereits eine Vorstellung über die Größe der Gesamtpopulation. Dies war der Grund, warum die Statistik des RKI für die Schätzung der Gesamtzahl neonataler invasiver GBS-Fälle für die vorliegende Studie den Bayesianischen Ansatz für die Capture-Recapture-Methode (CRM) angewendet hat (George, 1992; Wang, 2007). Diese Modellerweiterung erlaubt es, bereits vorhandene Informationen in die Schätzung der Gesamtzahl einfließen zu lassen. Ausgangspunkt des Bayesianischen Ansatzes ist die Kombination

des unbekannten Modellparameters mit den bereits bekannten Daten. Mit dieser Methode kann auch die Erfassungsvollständigkeit (Sensitivität) der Erfassungssysteme errechnet werden.

Inzidenzberechnungen

Populationsbezogene Kalkulationen basierten auf den Bevölkerungszahlen der Jahre 2009 und 2010 mit dem Gebietsstand vom 31.12.2011 (Statistisches Bundesamt). Das statistische Bundesamt registrierte 1.343.073 Lebendgeburten im 24-monatigem Studienzeitraum. In der Altersgruppe 0-90 Tage wird die Inzidenz pro 1.000 Lebendgeborene angegeben.

.

5.3 Ergebnisse

Studienteilnehmer- und Non-Responder-Analyse

Im Studienzeitraum vom 01.01.2009 bis zum 31.12.2010 wurden 470 Kinderkliniken und -abteilungen in Deutschland identifiziert. Davon nahmen 445 an der ESPED-Erfassung teil (95 %). Die Rücklaufrate der monatlichen Fragebögen betrug über den gesamten Studienzeitraum über 95 %.

1.230 nationale Labor- bzw. Krankenhausanschriften wurden nach o.g. Kriterien als potentiell relevant für die Surveillance-Studie identifiziert und angeschrieben. Die Rücklaufrate auf das initiale Anschreiben betrug 31 % (382/1230). 34 % (129/382) dieser Labore gaben an, Testungen auf *Streptococcus agalactiae* durchzuführen. Bis auf eine Ausnahme führten diese Labore auch Tests auf *E. coli* bei Neugeborenen durch. 111 der 129 relevanten Labore stimmten einer Studienteilnahme zu, sodass die Teilnehmerrate 86 % betrug. Die Gründe für die Ablehnung der Studienteilnahme waren hauptsächlich fehlende Voraussetzungen zusammengefasst (*Abbildung 1*).



Abbildung 1: Gründe für die Ablehnung einer Studienteilnahme (n=271)

In allen 16 Bundesländern waren teilnehmende Labore vertreten. Die Anzahl der Labore pro Bundesland zeigt die schematische Deutschlandkarte (*Abbildung 2*).

Während der zweijährigen Studienphase meldeten 93 Labore kontinuierlich Daten zu invasiven GBS, während 18 Labore limitiert über einen Zeitraum von 8 bis 20 Monaten Daten zur Verfügung stellten. Die Gründe für einen vorzeitigen Ausstieg aus der Studie waren, bis auf eine Ausnahme, die Schließung der mikrobiologischen Abteilungen bzw. des gesamten Labors. Beendete ein Labor die Studienteilnahme aufgrund der Laborschließung, wurden die Labore kontaktiert, die die Probenanalysen weiterführten. Das führte zum Teil zur Akquirierung neuer Labore. Größtenteils stellten wir jedoch fest, dass die Untersuchungen auf ein bereits teilnehmendes Labor übergingen. Insgesamt betrug die Rücklaufrate der monatlichen Meldebögen > 95 %.

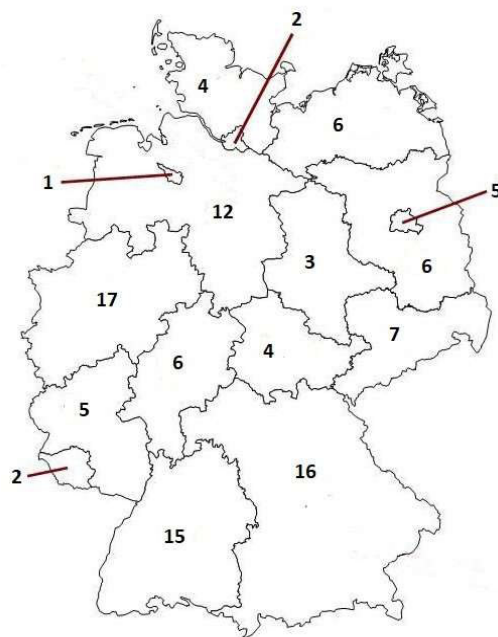


Abbildung 2: Anzahl der teilnehmenden Labore pro Bundesland (n=111)

Matching

Beim Matching der Daten beider Erfassungssysteme ergaben sich 76 Matchingpaare. Abweichende und übereinstimmende Parameter sind tabellarisch aufgelistet (*Tabelle 1*).

Tabelle 1: Kategorien des Matchings mit den jeweiligen Kombinationsvarianten aus übereinstimmenden und abweichenden Variablen der GBS-Meldungen mit den zugehörigen Fallzahlen (n=76)

Kategorie „Sichere Übereinstimmungen“		
Übereinstimmungen	Abweichungen	Fallzahl
Gruppe A		
1) Geburtsmonat u. -jahr 2) 2. Buchstabe von Vor-u. Nachname in Reihenfolge 3) Datum der Probenentnahme/-eingang (+/- 2 Tage) 4) Wohnort-PLZ* (die ersten 3 Ziffern) 5) Geschlecht 6) Probenmaterial		27
Gruppe B		
1) Geburtsmonat u. -jahr 3) Datum der Probenentnahme/-eingang (+/- 2 Tage) 4) Wohnort-PLZ* (die ersten 3 Ziffern) 5) Geschlecht 6) Probenmaterial	2) 2. Buchstabe von Vor- und Nachnamen in verdrehter Anordnung	40
Summe		67
Kategorie „Wahrscheinliche Übereinstimmungen“		
Übereinstimmungen	Abweichungen	Fallzahl
1) Geburtsmonat u. -jahr 3) Datum der Probenentnahme/-eingang (+/- 2 Tage) 4) Wohnort-PLZ* (die ersten 3 Ziffern) 5) Geschlecht 6) Probenmaterial	2) 1 korrekter Buchstabe, 2. Buchstabe <i>ohne</i> Angabe	2
1) Geburtsmonat u. -jahr 3) Datum der Probenentnahme/-eingang (+/- 2 Tage) 5) Geschlecht 6) Probenmaterial	2) 2. Buchstabe von Vor- und Nachnamen in verdrehter Anordnung <i>ohne</i> 4) Wohnort-PLZ*	2
1) Geburtsmonat u. -jahr 3) Datum der Probenentnahme/-eingang (+/- 2 Tage) 5) Geschlecht 6) Probenmaterial	2) 2. Buchstabe von Vor- und Nachnamen in verdrehter Anordnung <i>ohne</i> 4) Geschlecht (ESPED)	2
1) Geburtsmonat u. -jahr 3) Datum der Probenentnahme/-eingang (+/- 2 Tage) 5) Geschlecht 6) Probenmaterial	2) 2. Buchstabe von Vor- und Nachnamen in verdrehter Anordnung <i>mit abweichender</i> 4) Wohnort-PLZ* (457 und 445)	1
1) Geburtsmonat u. -jahr 4) Wohnort-PLZ* (die ersten 3 Ziffern) 5) Geschlecht 6) Probenmaterial	2) 2. Buchstabe von Vor- und Nachnamen in verdrehter Anordnung <i>mit abweichendem</i> 3) Datum der Probenentnahme/-eingang (3.12. vs. 9.12.)	1
1) Geburtsmonat u. -jahr 3) Datum der Probenentnahme/-eingang (+/- 2 Tage) 4) Wohnort-PLZ* (die ersten 3 Ziffern) 5) Geschlecht 6) Probenmaterial	2) <i>ohne</i> Angabe der Buchstaben von Vor-u. Nachname	1
Summe		(+ 9) 76

*PLZ = Postleitzahl

Fallzahlen und Minimalinzidenzen

Das RKI erfasste insgesamt 169 Fälle in den Jahren 2009 und 2010. Die ESPED erfasste im gleichen Zeitraum 226 Fälle (*Tabelle 2*). Die Summe aus „sicheren“ und „wahrscheinlichen Übereinstimmungen“ im Matching ergab 76 gemeinsam erfasste GBS-Fälle.

Tabelle 2: Anzahl der durch das RKI, die ESPED und gemeinsam erfassten GBS-Fälle nach männlich (M), weiblich (W), unbekanntes Geschlecht (unb.) bzw. keine Angabe (k.A.) nach Monat und Jahr

2009											
	RKI				Gemeinsam			ESPED			
Monat	unb./k.A.	Gesamt	W	M	Gesamt	W	M	W	M	Gesamt	unb./k.A.
Januar	1	11	4	6	8	4	4	4	7	11	0
Februar	0	5	1	4	3	0	3	3	5	8	0
März	1	9	2	6	5	2	3	5	6	11	0
April	0	6	2	4	2	0	2	5	2	8	1
Mai	0	11	7	4	7	5	2	9	3	12	0
Juni	0	3	2	1	2	1	1	1	3	4	0
Juli	0	3	2	1	0	0	0	9	2	11	0
August	0	8	5	3	2	1	1	4	6	10	0
September	0	7	3	4	3	0	3	3	9	12	0
Oktober	0	7	4	3	4	3	1	6	2	8	0
November	0	5	1	4	3	0	3	2	5	7	0
Dezember	0	8	4	4	5	2	3	3	8	12	1
Summe	2	83	37	44	44	18	26	54	58	114	2
2010											
	RKI				Gemeinsam			ESPED			
Monat	unb./k.A.	Gesamt	W	M	Gesamt	W	M	W	M	Gesamt	unb./k.A.
Januar	0	4	1	3	3	1	2	5	8	13	0
Februar	0	7	3	4	4	3	1	8	1	9	0
März	0	9	3	6	3	2	1	5	3	8	0
April	0	9	4	5	3	1	2	3	4	7	0
Mai	0	6	5	1	3	3	0	6	3	9	0
Juni	0	5	1	4	2	0	2	3	3	6	0
Juli	0	7	3	4	3	3	0	7	5	12	0
August	0	10	8	2	1	1	0	5	4	9	0
September	0	6	1	5	3	1	2	6	6	12	0
Oktober	0	5	1	4	1	0	1	6	3	9	0
November	0	6	3	3	2	1	1	1	3	4	0
Dezember	0	12	4	8	4	2	2	6	8	14	0
Summe	0	86	37	49	32	18	14	61	51	112	0
2009 und 2010											
	RKI				Gemeinsam			ESPED			
	Gesamt		W	M	Gesamt	W	M	W	M	Gesamt	
Summe	169		74	93	76	36	40	115	109	226	

Betrachtete man die Fallzahlen des pädiatrischen Erfassungssystems ESPED einzeln, ergab sich eine Minimalinzidenz von 0,17 (95 % CI: 0,13-0,15) pro 1.000 Lebendgeborene. Männlich waren 48,9 % (110/224) der ESPED-Fälle, 2 Fälle waren unbekannten Geschlechts.

Die 169 allein durch das laborbasierte System (RKI) erfassten Fälle ergaben eine Minimalinzidenz von 0,13 (95 % CI: 0,11-0,15) pro 1.000 Lebendgeborene. Davon waren 55,7 % (93/167) männlich, 2 Fälle waren unbekannten Geschlechts.

Die laborbasierten Erfassungen ließen aufgrund der anonymisierten Daten keine Unterscheidung zwischen EOD und LOD zu. Die ESPED-Daten ermöglichten eine Zuordnung des exakten Alters zum Erkrankungszeitpunkt in 214 der 226 Fälle (94,7 %). Zum Erkrankungszeitpunkt waren 92 (43 %) Neugeborene < 7 Tage alt und 122 (57 %) waren 7-90 Tage alt. Die Ratio von EOD zu LOD betrug 0,75 (92:122). Die errechneten Minimalinzidenzen betrugen 0,15 für EOD und 0,19 für LOD pro 1.000 Lebendgeborene.

CRM-basierte Gesamtzahl, Inzidenz und Sensitivitätsanalyse

Die Berechnung der Gesamtpopulation mit dem Bayesianischen Ansatz für die Capture-Recapture-Methode ergeben 450 neonatale GBS-Infektionen innerhalb des Studienzeitraums (95 % CI: 403-510). Dies bedeutet eine geschätzte Gesamtinzidenz von 0,34 (95 % CI: 0,30-0,38) pro 1.000 Lebendgeborene in Deutschland. Die Sensitivität liegt für das Erfassungssystem ESPED bei 50 % (95 % CI: 43-58 %) und für die laborbasierte Erfassung bei 38 % (95 % CI: 32-44 %).

5.4 Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Änderungen der Fallzahlen neonataler GBS-Erkrankungen deutschlandweit seit Implementierung der S1-Leitlinie „Sepsis bei Neugeborenen - frühe Form - durch Streptokokken der Gruppe B, Prophylaxe“ von 2008 mit ihrer Empfehlung einer screeningbasierten IAP zu quantifizieren. Die so gewonnenen Daten ließen sich mit den bereits vorhandenen Daten einer Studie von 2001-2003 mit äquivalentem Studiendesign vergleichen. Diese zweijährige Studie wurde noch unter der Prämisse einer gleichwertigen Empfehlung beider Strategien (der Test- und der Risikostrategie) durchgeführt. Die Daten wurden vor dem Hintergrund der Neuordnung der Präventionsstrategien betrachtet.

Seit Januar 2008 wurden durch die ESPED invasive Gruppe B-Streptokokken- und *Escherichia coli*-Infektionen in die Erhebung eingeschlossen. Die Prüfung der Vollständigkeit der ESPED-Erfassung bezüglich neonataler GBS-Infektionen und die Schätzung der Gesamtzahl neonataler GBS-Fälle in Deutschland erfolgte mit Hilfe eines zweiten, laborbasierten Erfassungssystems, das im Rahmen meiner Arbeit am Robert Koch-Institut (RKI) neu etabliert worden war.

Um für die vorliegende Studie nach Möglichkeit alle relevanten Labore deutschlandweit einzuschließen, wurde im Rahmen meiner Arbeit ein komplett neuer und umfassender Labordatensatz erstellt. Bestehende nationale Labordatenbanken des RKI wurden selektiert und aktualisiert. Dieser Schritt war erforderlich, da die existierenden Labordatenbanken für Studien mit anderen Fragestellungen erstellt und somit bereits spezifisch selektiert worden waren. Zusätzlich wurde die daraus entstandene Labordatenbank auf Grundlage des Branchenverzeichnisses Gelbe Seiten® erheblich erweitert. In der vorliegenden Studie wurden in einer Non-Responder-Analyse die Rücklauf- und Teilnehmerraten dargestellt, um - orientiert an epidemiologischen Standards - eine Vergleichbarkeit verschiedener Studien herzustellen (Sandler, 2002). Die initiale Rücklaufrate auf das erste Anschreiben zwecks Teilnehmerakquirierung erschien mit 31 % (382/1230) nicht hoch, war aber der Tatsache geschuldet, dass ein möglichst breiter Ansatz gewählt wurde. Um möglichst alle Labore einzuschließen, wurden auch Kliniken mit der Bitte um Weiterleitung an das zuständige mikrobiologische Labor angeschrieben. Dadurch könnten Labore unser Schreiben mehrfach erhalten haben oder Anschreiben erreichten nicht den passenden Empfänger. Betrachtet man die Gründe, die bei einer Ablehnung der Studienteilnahme angegeben wurden, wurde deutlich, dass bei über 90 % der Labore die Einschlusskriterien der Studie nicht erfüllt werden konnten. Mehrere Labore verwiesen im Zuge der abgelehnten Studienteilnahme darauf, dass für Gruppe B-Streptokokken-Tests in ihrer Region ein bestimmtes Labor zuständig sei. Dies könnte ein Indiz für die allgemeinen Konzentrationstendenzen in der Labor-Branche sein: Privatisierung und Outsourcing von Leistungen, Zusammenschlüsse von Unternehmen und Übernahmen führen zur Entstehung weniger, dafür größerer Labore (Schöneberg et al., 2016). Auch während der vorliegenden Studie waren solche Zusammenschlüsse von Laboren zu beobachten. Der Anteil teilnehmender Labore, die als relevant identifiziert wurden, war mit 86 % (111/129) hoch. Die monatlichen Anschreiben mit Kontrollmechanismen (monatliche Gesamtabfrage zum 15. des Folgemonats, ggf. Negativmeldung) sowie konsequente telefonische und schriftliche Nachfragen führten zu einer hohen Rücklaufrate von über 95 %. Zusammen mit der Verteilung der Labore über das gesamte Bundesgebiet spricht dies für die Repräsentativität der laborbasierten Erfassung.

Aufgrund der Wahl eines Studiendesigns äquivalent zur zweijährigen Studie von 2001-2003 lassen sich die Daten der vorliegenden Studie mit den Daten aus den Jahren 2001-2003 vergleichen, so dass sich

Entwicklungen der Fallzahlen bzw. Auswirkungen der Präventionsmaßnahmen bzgl. neonataler GBS-Erkrankungen beobachten lassen (Fluegge et al., 2006). In der Studie von 2001-2003 erfasste die ESPED 347 neonatale GBS-Fälle, in der vorliegenden Studie 226 (Fluegge et al., 2006). Das bedeutete eine Reduktion der durch die ESPED erfassten Fälle um 35 %. Bei der laborbasierten Erfassung reduzierte sich die Anzahl der erfassten Fälle um 53 % (2001-2003: n=360; 2009-2010: n=169). Aufgrund der geringeren Anzahl der in der Surveillance-Studie von 2009-2010 gemeinsam erfassten Fälle (Nenner der CR-Formel), wurde die geschätzte Gesamtzahl nach der Capture-Recapture-Formel wiederum größer. Es gab in der Studie von 2001-2003 jeweils mehr erfasste Fälle beim RKI und bei ESPED, aber auch mehr gemeinsam erfasste Fälle. Die Schnittmenge zwischen den beiden unabhängigen Erfassungssystemen reduzierte sich in der vorliegenden Surveillance-Studie im Vergleich dazu um 12 % (2001-2003: n= 27 %; 2009-2010: n=15 % gemeinsam erfasste Fälle). Methodische Unterschiede im Studienverlauf mussten als Ursache hierfür kritisch geprüft werden. Eine Vergleichbarkeit bzgl. der Rücklauf- und Partizipationsrate war nicht möglich, da hierzu in der Studie von 2001-2003 keine Angaben gemacht wurden. Es ließ sich aber festhalten, dass es Unterschiede beim Akquirieren der Labore gab. In der Vorgängerstudie lag der Fokus ausschließlich auf der Altersklasse 0-90 Tage, in der vorliegenden Studie auf allen Altersgruppen. Daher unterschied sich das Vorgehen für die Erstellung der Labordatenbank. In der Studie von 2001-2003 wurden alle Kinderkliniken in Deutschland angeschrieben und um die Bekanntgabe der zuständigen Labore mit dazugehörigen Kontaktdaten gebeten. Aus nachvollziehbaren Gründen der Effektivität wurde damit gezielt nach neonatalen invasiven GBS-Fällen an denjenigen Kliniken gesucht, von denen man annehmen konnte, dass sich die untersuchte Population dort beobachten ließ. Ziel der Laborakquirierung bei der vorliegenden Studie war es, alle mikrobiologischen Labore zu erreichen. Die Anbindung eines Labors an eine Kinderklinik war im Vergleich zur Studie von 2001-2003 kein Auswahlkriterium. Der Grund hierfür lag in dem erstmaligen Studieneinschluss aller Altersgruppen für invasive GBS. Die genannten Unterschiede im Vorgehen der Studien sind kein Argument gegen die Capture-Recapture-Methode. Zu Bedenken ist jedoch, dass eine übergroße Schnittmenge beider Erfassungssysteme die CRM-Kalkulation ungenauer werden lässt. Die gezielte Laborerfassung direkt über die Kinderkliniken in der Studie von 2001-2003 könnte also zu einer größeren Überlappung der beiden Erfassungssysteme geführt haben oder aber zu einer vollständigeren Datenerfassung. Es ist nicht auszuschließen, dass durch den weniger „selektiven“ Ansatz bei der Auswahl mikrobiologischer Labore in der vorliegenden Studie neonatale GBS-Fälle verpasst wurden. Von einer Unabhängigkeit der beiden Erfassungssysteme ist jedoch in den beiden Studien - wie oben dargestellt - auszugehen.

Da die ESPED mehr Fälle erfasste als das laborbasierte Erfassungssystem wurde ein geographischer Vergleich nicht gemeinsam erfasster Fälle der beiden Erfassungssysteme anhand der ersten drei Stellen der Postleitzahlen (PLZ) mittels Differenzbildung durchgeführt. Bezogen auf 2-stellige PLZ ergaben sich 12 relevante Differenzen von insgesamt 87 2-stelligen Postleitzahlen. Differenzen zwischen der Anzahl der Fallmeldungen pro PLZ wurden ab ≥ 4 genauer betrachtet. Bei den Differenzen zeigten sich geographische Tendenzen: Bei den ESPED-Fällen gab es relevante Differenzen bei den Postleitzahlen in Nordrhein-Westfalen und Niedersachsen (Differenz 23). Hypothetisch könnte hier die Nähe zum Universitätsklinikum Düsseldorf zu einem geographischen Muster im Sinne eines „ESPED-Einzugsgebietes“ geführt haben. Es zeigte sich auch eine Differenz bei Postleitzahlen in Bayern (Differenz 7). Spekulativ könnte die Nähe zu Freiburg zu einem geographischen Muster geführt haben und mit einer Differenz von 4 ist eine Assoziation der Erfassung durch das RKI zu Berliner GBS-Fällen ebenfalls vorstellbar. Zusammengefasst erfasste ESPED gründlicher in Nordrhein-Westfalen, Niedersachsen sowie Bayern und zeigte insgesamt eine höhere Sensitivität. Hingegen scheint die Erfassung durch das RKI flächendeckend gleichmäßiger zu sein. Die Betrachtung der ersten 3 Ziffern der

PLZ führte zu keinen erkennbaren Relationen. Von manifesten geographischen Schwerpunkten mit bedeutender Steigerung der erfassten klinikbasierten GBS-Fälle kann somit nicht die Rede sein.

Invasive GBS-Erkrankungen sind in Deutschland keine meldepflichtige Erkrankung. Durch die Capture-Recapture-Methode (CRM) mit den beiden unabhängigen Erfassungssystemen am RKI und der ESPED ließ sich die Inzidenz glaubhaft schätzen. Die Bedingungen der CRM wurden stringent beachtet. Dabei war die Genauigkeit der Schätzung von Populationsgrößen mithilfe der Capture-Recapture-Methode (CRM) keine rein statistisch-mathematische Aufgabe. Die Bedingung einer verlässlichen und eindeutigen Kennzeichnung (Markierung) der Personen, um diese später zweifelsfrei wiedererkennen zu können, war aufgrund der anonymisierten Personendaten der laborbasierten Erfassung eine logistische Herausforderung (International Working Group for Disease Monitoring and Forecasting, 1995b). Es wurden Axiome der verfügbaren Parameter gewählt und die Bedingungen des Matchings entsprechend der Capture-Recapture-Methode streng definiert. Die Qualität des Matchings bei der Capture-Recapture-Methode ist elementar für die Genauigkeit der kalkulierten Gesamtzahl und Sensitivität von Erfassungssystemen. Die Matchingpaare, die in die CRM-Kalkulation eingeschlossen wurden, waren eindeutig: 27 Matchingpaare stimmten in 100 % der Parameter überein. Eine Gruppe mit 40 Matchingpaaren zeigte eine verdrehte Anordnung des 2. Buchstabens des Vor- und Nachnamens. Hier ist bei der Gestaltung des Fragebogens ein systematischer Fehler anzunehmen, plausibel erklärbar durch eine nicht intuitive oder dem Laboralltag gegensätzliche Anordnung von Vor- und Nachnamen. Dies könnte in der Zukunft besser berücksichtigt werden. Weitere 9 Matchingpaare erfüllten nicht alle Matchingkriterien, es handelte sich aber lediglich um marginale Abweichungen, sodass diese Fälle als wahrscheinliche Übereinstimmungen ebenfalls in die CRM-Kalkulation eingeschlossen wurden. Die sich daraus ergebende Schnittmenge betrug 76 Fälle. Eine Untererfassung beider Systeme durch das streng probenorientierte Studiendesign ist nicht ausgeschlossen. Eine Prüfung auf weitere Matchingpaare, die durch dieses Vorgehen unerkannt blieben, wurde durchgeführt. In einem patientenorientierten Matching wurden der Erkrankungszeitpunkt bzw. der Zeitpunkt der Probenentnahme und die Art des Probenmaterials außer Acht gelassen. Dieser Matching-Vorgang ergab 8 weitere Übereinstimmungen (im Ergebnisteil nicht dargestellt), die insgesamt jedoch zu uneindeutig waren. Wir haben uns gegen den Einschluss dieser wenigen Matchingpaare in die CRM-Kalkulation entschieden.

Bei der Fallmeldung durch die Kinderkliniken und durch die Labore stellt der positive GBS-Nachweis in primär sterilem Körpergewebe eine Schnittstelle beider Erfassungssysteme dar. Dabei handelt es sich jedoch um die Falldefinition, nicht um eine Abhängigkeit.

Die Forderung nach einer geschlossenen Population wurde in der vorliegenden Arbeit erfüllt, denn die Neugeborenen-Sterblichkeit ist in Deutschland zu gering, um einen relevanten Störfaktor darzustellen und es ist unwahrscheinlich, dass erkrankte Neugeborene mit einer GBS-Erkrankung das Land verlassen. Das Verfahren der CRM ist grundsätzlich so angelegt, dass aus sämtlichen Quellen nur unvollständige Daten der tatsächlichen Fallzahlen zu erwarten sind und aus jeder Quelle nur unabhängige Stichproben genommen werden. Die Erweiterung der Capture-Recapture-Methode um den Bayesianischen Ansatz erlaubte es, das bereits vorhandene Wissen aus der Studie von 2001-2003 mit den erfassten Fallzahlen der vorliegenden Studie zu kombinieren und in die Schätzung der Gesamtzahl einfließen zu lassen. Unabhängig von dem Gewicht, mit dem man dieses Vorwissen (Priorverteilung) beim Bayesianischen Ansatz einfließen ließ, ist dies auch der größte Diskussionspunkt an dem Bayesianischen Ansatz. Verschieden hohe Priors („Vorannahmen“) haben nämlich auch verschieden hohe Posteriors („Ergebnisse“) zur Folge (Sedlmeier and Renkewitz, 2007). Das Vorwissen (Fallzahlen der Studie von 2001-2003) basiert jedoch in unserem Falle auf einer, den CRM-Bedingungen korrekt folgenden

Surveillance-Studie und ist somit nicht „subjektiv“ oder spekulativ, so dass anzunehmen ist, dass der Bayesianische Ansatz in der vorliegenden Studie zu genaueren Schätzungen geführt hat.

Die ESPED ist ein bewährtes System, das seit über 25 Jahren besteht und sich zum Ziel gesetzt hat, medizinische, gesundheitspolitische und wissenschaftliche Rahmenbedingungen für die Diagnostik und Therapie seltener Erkrankungen zu schaffen bzw. zu verbessern. Wie bei jedem Erfassungssystem muss man davon ausgehen, dass aus verschiedenen Gründen Erfassungslücken bestehen. Diese Erfassungslücken können durch ein zweites, unabhängiges Erfassungssystem - in unserem Falle durch das laborbasierte Erfassungssystem am RKI – anhand der Capture-Recapture-Methode in ihrer Größenordnung eingeschätzt und offen dargestellt werden. Die vorliegende Studie ergab für die ESPED eine Sensitivität von schätzungsweise 50 %. Die ermittelte Sensitivität liegt damit im Spektrum früherer Prüfungen zur Vollständigkeit der ESPED-Erfassungen. Unterschiedliche Capture-Recapture-Modelle wurden im Rahmen anderer Erkrankungen, die durch ESPED erfasst wurden, angewandt (Ebrahimi-Fakhari et al., 2018; Jakob et al., 2016; Reinhardt et al., 2014; Schielke et al., 2018). Die ermittelten Sensitivitäten der ESPED-Erfassungen lagen dabei zwischen 38 % und 76 % (Tabelle 3).

Tabelle 3: Beispiele für die Prüfung der Sensitivität (%) verschiedener ESPED-Erfassungen unter Anwendung der CRM mit einer 2. Datenquelle

Erfasste Erkrankung durch ESPED	2. Datenquelle	Sensitivität
Diabetes mellitus	Hausärzte	76 %
Systemische <i>Haemophilus influenzae</i> Infektionen	Mikrobiologische Labore	48 %
Systemische Pneumokokken-Infektionen	Mikrobiologische Labore	
• Alle Fälle		38 %
• Meningitiden		56 %
Organoazidopathien/Fettsäureoxidationsdefekte	Stoffwechselspeziallabore	55 %

Quantitativ erfasst die ESPED Krankheitsfälle nicht vollständig. Im Falle von ESPED kann es sein, dass Fälle einer untersuchten seltenen Krankheit nicht erkannt, d.h. nicht diagnostiziert und dadurch nicht gemeldet wurden (sogenannter diagnostic bias). Möglicherweise wurden aber auch diagnostizierte Fälle nicht gemeldet und konnten dadurch von ESPED nicht erfasst werden (sogenannter reporting bias). Als einzelnes Erfassungssystem ist demnach aktuell noch von einer Effizienz auszugehen, die unterhalb der tatsächlichen Fallzahl liegt. Die Qualitätskriterien der CDC für Surveillance-Systeme bzgl. Einfachheit, Flexibilität, Rechtzeitigkeit, Qualität der Daten, Repräsentanz und Vollständigkeit, Akzeptanz und Stabilität werden jedoch erfüllt (Ebrahimi-Fakhari et al., 2018). Eine hohe Partizipationsrate der Kinderkliniken von 95 % mit Rücklaufraten von über 95 % im Rahmen der vorliegenden Studie spricht zusammen mit insgesamt zahlreichen hochwertigen Publikationen weltweit dafür, dass sich die ESPED in den letzten 25 Jahren erfolgreich etabliert hat und valide Daten liefert (Ebrahimi-Fakhari et al., 2018).

In der zweijährigen Studie aus den Jahren 2001-2003 ergab sich nach Anwendung der Capture-Recapture-Methode eine geschätzte Gesamtzahl von 679. In der vorliegenden Studie von 2009-2010 schätzten wir die Gesamtpopulation auf 450. Die Inzidenz betrug im Zeitraum 2009-2010 für invasive GBS-Infektionen bei Neugeborenen in Deutschland somit 0,34 pro 1.000 Lebendgeborene und hat damit im Vergleich zum Studienzeitraum 2001-2003 (0,47 pro 1.000 Lebendgeborene) um etwa ein Drittel abgenommen.

Seit 2000 empfiehlt die DGGG den vaginal-rektalen Abstrich in der 35 + 0 bis 37 + 0 SSW. Bis heute ist ein solches Screening aber nicht Teil der Mutterschaftsrichtlinien und daher auch keine Kassenleistung. Ohne Risikofaktoren oder Verdacht auf GBS-Kolonisation der Schwangeren kostet der Gruppe B-Streptokokkentest in Deutschland 10-30 Euro. Es scheint, dass dennoch ein Großteil der Schwangeren diesen Test in Anspruch nimmt. Im Jahr 2011-2012 wurde in einer regionalen Studie eine GBS-Screening-Rate von 68 % ermittelt (Kunze et al., 2015). Einer deutschlandweiten Stichprobe von 2014 nach nahmen etwa 75 % der Schwangeren das Testangebot wahr und lediglich 10 % der Frauen, denen der Test angeboten worden war, lehnten diese sogenannte IGeL-Leistung ab (Buchberger et al., 2017). Eine Übernahme der Kosten für den GBS-Test in der Schwangerschaft durch die gesetzlichen Krankenkassen würde eine flächendeckende Umsetzung der Screeningstrategie sicherlich begünstigen. Die IAP-Rate stieg am Universitätsklinikum Freiburg von 39 % im Jahr 2003-2004 auf 89 % im Jahr 2011-2012 (Kunze et al., 2011; Kunze et al., 2015). Man kann annehmen, dass es insgesamt über die Jahre zu einer vermehrten Umsetzung des GBS-Screenings und zu einer Zunahme der Durchführung der IAP gekommen ist. Bei der Betrachtung der ESPED-Fälle allein kann man bereits ab 2008 eine Abnahme der EOD-Fälle beobachten (Tabelle 4).

Tabelle 4: Fallzahlen der Erfassung neonataler GBS-Infektionen durch ESPED nach Alter zum Erkrankungszeitpunkt für die Jahre 2008-2010

Alter zum Erkrankungszeitpunkt	2008	2009	2010
Early-onset disease (EOD)	52	47	45
Late-onset disease (LOD)	57	60	62
Neugeborene ohne Zuordnung zu EOD oder LOD	6	7	5
Summe	115	114	112

Die Revision der Leitlinie „Sepsis bei Neugeborenen - frühe Form - durch Streptokokken der Gruppe B, Prophylaxe“ von 2008 entsprach keinem Paradigmen- bzw. Richtungswechsel von risikobasierter zu screeningbasierter IAP. Vielmehr wurde der bisher als gleichwertig angesehene risikobasierte Ansatz verlassen. Der beobachtete Rückgang von EOD-Fällen war wahrscheinlich nicht allein Resultat der Anpassungen der Leitlinie von 2008, sondern auch Ergebnis sich wandelnder klinischer Praxis bereits vor 2008, möglicherweise beeinflusst durch die Effektivität der screeningbasierten CDC-Guidelines von 2002 in den USA. In welcher zeitlichen Dynamik Veränderungen umgesetzt wurden bzw. stattgefunden haben, lässt sich nicht exakt bestimmen. Eine zeitlich kontinuierliche Erfassung durch z.B. eine Meldepflicht für invasive GBS-Infektionen - wie in den USA - steht zum jetzigen Zeitpunkt in Deutschland nicht zur Verfügung. In den USA wurden 1996 GBS-Leitlinien implementiert, die eine risikobasierte IAP empfahlen (Risikostrategie) und mit der deutschen Leitlinie von 1992 vergleichbar waren. 2002 wurden diese in den USA geändert. Die CDC-Guidelines empfahlen seither bei allen Schwangeren zwischen der 35 + 0 und 37 + 0 SSW ein Screening auf Streptokokken der Gruppe B und bei positivem Testergebnis eine IAP durchzuführen. Seitdem nahmen EOD-Fälle in den USA schrittweise um 80 % ab und waren seit etwa 2010 auf niedrigerem Niveau stabil (Nanduri et al., 2019; Schrag and Verani, 2013; Schrag et al., 2000). Von 1,8 Fällen pro 1.000 Lebendgeborene in den 1990ern wurde eine Reduktion auf 0,37 Fälle pro 1.000 Lebendgeborene im Jahr 2006 und auf 0,23 pro 1.000 Lebendgeborene im Jahr 2015 verzeichnet (Nanduri et al., 2019; Phares et al., 2008).

Im Vergleich der Zahlen der vorliegenden Studie mit denen der Studie von 2001-2003 nahm die Anzahl der EOD-Fälle deutlich ab (2001-2003: n=206; 2009-2010; n= 92). Die EOD-LOD-Ratio verkehrte sich im Zeitraum 2001-2003 von 1,52 (206:136) zu 0,75 (92:122) im Zeitraum 2009-2010. Die Abnahme der

Inzidenz invasiver GBS-Infektionen bei Neugeborenen war in Deutschland - wie auch in den USA - vornehmlich auf den Rückgang der EOD-Fälle zurückzuführen. Vor der Implementierung von Präventionsmaßnahmen betrug das Verhältnis von EOD zu LOD schätzungsweise 80:20 (Zangwill et al., 1992). Dies ist ein weiterer Beleg der Wirksamkeit von IAP auf EOD und ein Indiz für die Effektivität der Teststrategie, jedoch zeigt sich kein Einfluss auf die Letalität, wie man den klinischen Daten der ESPED entnehmen kann (Gopal Rao et al., 2017; Schrag et al., 2002). Die Letalität blieb mit etwa 4 % auf dem gleichen Niveau der Studie von 2001-2003 (Lander et al., 2010).

Die absoluten Zahlen für LOD-Fälle sind nur leicht gesunken (2001-2003: n=136; 2009-2010: n=122). Auch in den USA blieben die Zahlen für LOD seit 2002 weitestgehend stabil mit einer durchschnittlichen Inzidenz von 0,31 pro 1.000 Lebendgeborene (Nanduri et al., 2019). Insgesamt scheint die IAP, unabhängig von Test- oder Risikostrategie, keinen Einfluss auf LOD zu haben (Heath et al., 2017). Für die Entwicklung effektiver Präventionsstrategien für LOD wurden bisher zu wenige, meist retrospektive Studien zu potentiellen Parametern von LOD durchgeführt (Berardi et al., 2021).

Mit der von uns ermittelten Gesamtinzidenz von 0,34 pro 1.000 Lebendgeborene liegt Deutschland unter den europäischen und auch weltweiten Vergleichswerten.

Insgesamt liegt die Inzidenz für neonatale GBS-Erkrankungen weltweit laut einer systematischen Metaanalyse von 2017 bei 0,49 pro 1.000 Lebendgeborene und bei 0,53 für Europa (Madrid et al., 2017). Insbesondere in Europa und in den USA sind die Zahlen für neonatale GBS-Fälle in den Jahren nach Implementierung der screeningbasierten IAP deutlich gefallen. In Asien beträgt die Inzidenz 0,3 pro 1.000 Lebendgeborene, wobei die Inzidenzangaben hier regional variieren: In China liegt die geschätzte Inzidenz bei 0,55 und in Japan bei 0,08 pro 1.000 Lebendgeborene (Ding et al., 2020; Matsubara et al., 2013). In Japan wird die beschriebene Teststrategie noch durch ein zusätzliches Screeningangebot in der 20. Schwangerschaftswoche erweitert (Le Doare et al., 2017). In Hongkong sank die Inzidenz von EOD-GBS um 75 % auf 0,24 pro 1.000 Lebendgeborene, nachdem die Teststrategie eingeführt worden war (Ma et al., 2018). In Afrika liegt die Inzidenz bei schätzungsweise 1,12 pro 1.000 Lebendgeborene und ist in den letzten Jahren fast unverändert geblieben (Madrid et al., 2017). Das entspricht der höchsten Inzidenz für neonatale GBS-Erkrankungen im Vergleich der Kontinente. In einem Review zu Präventionsstrategien weltweit berichteten aus Afrika lediglich Kenia und Südafrika von existierenden IAP-Leitlinien (Le Doare et al., 2017). Auch wenn die WHO die screeningbasierte IAP weltweit empfiehlt, so weiß sie um die Schwierigkeit, diese Richtlinie in Ländern mit geringem Einkommen, beschränkten Ressourcen und einer limitierten Gesundheitsversorgung, in denen die Mehrheit der Kinder im häuslichen Umfeld geboren wird, zu implementieren (Vekemans et al., 2019). Die Metaanalyse von Rao and Khanna von 2020 kommt wie auch Seale et al. in der Studie von 2017 zu dem Schluss, dass die führende Rolle von GBS-Infektionen mit schätzungsweise weltweit 409.000 mütterlichen, fetalen und neonatalen Fällen pro Jahr mit z.T. erheblichen gesundheitlichen Folgen für Mutter und Kind letztlich durch eine GBS-Impfung unter Umgehung von IAP am effektivsten verhindert werden würde (Berardi et al., 2015; Rao and Khanna, 2020; Seale et al., 2017). Die Entwicklung eines Impfstoffes für die Mütter stellt einen alternativen Lösungsansatz für dieses Problem dar (Bardají et al., 2019; Kobayashi et al., 2016).

Zahlreiche Forschungsarbeiten führten zu einem soliden Kenntnisstand über das Krankheitsbild neonataler invasiver GBS-Infektionen. Dabei sind die Risikofaktoren für GBS-Erkrankungen wie eine drohende Frühgeburt (< 37 + 0 SSW), der vorzeitige Blasensprung (≥ 18 Stunden), erhöhte Temperatur der Mutter (≥ 38°C), ein früheres Kind, das GBS-infiziert war sowie GBS-Bakteriurie während der Schwangerschaft gut untersucht und stellen bei unbekanntem Kolonisationsstatus einer Schwangeren

auch weiterhin eine berechtigte Indikation für IAP dar (Committee ACOG, 2020; Deutsche Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin, 2008; Verani and Schrag, 2010). Bei den letzten beiden Risikofaktoren ist das Sepsisrisiko so deutlich erhöht, dass auf ein Screening vor der IAP verzichtet werden kann. Es stellt sich die Frage, ob die alleinige risikobasierte IAP ausreichend ist, wenn 50% der EOD-Fälle bei Kindern von Müttern auftreten, die keine dieser Risikofaktoren aufwiesen, jedoch mit GBS kolonisiert waren (Flidel-Rimon et al., 2012; Håkansson et al., 2014; Heath et al., 2004). Länder, in denen die risikobasierte IAP empfohlen wird, kommen zu unterschiedlichen Ergebnissen. In England und Irland wird eine Form der Risikostrategie (ohne Berücksichtigung von Frühgeburtlichkeit und vorzeitigem Blasensprung) empfohlen und dort stieg die Inzidenz für EOD-GBS von 0,48 pro 1.000 Lebendgeborene im Jahr 2000 auf 0,57 pro 1.000 Lebendgeborene im Jahr 2015 (O'Sullivan et al., 2019). In den Niederlanden wird auch die Risikostrategie empfohlen, worunter ein kontinuierlicher Anstieg der Inzidenz von 0,32 pro 1.000 Lebendgeborene im Jahr 2011 auf 0,57 pro 1.000 Lebendgeborene im Jahr 2017 verzeichnet wurde (de Gier et al., 2019). Im Kontrast dazu wird in Neuseeland unter der Risikostrategie in einem Zeitraum von 10 Jahren eine Halbierung der Inzidenz auf 0,26 pro 1.000 Lebendgeborene in den Jahren 2009-2011 berichtet (Darlow et al., 2016). Diese Widersprüchlichkeiten könnten dadurch erklärt werden, dass es allein durch die Implementierung der Leitlinien - unabhängig vom Modell (Risiko- vs. Teststrategie) - überhaupt zu einer prophylaktischen Maßnahmenstrategie kam. Unstrittig ist, dass die vertikale Transmission und damit die Inzidenz von EOD-GBS-Infektionen durch die 1980 eingeführte intrapartale mütterliche Antibiotikaphylaxe reduziert werden konnte (Russell et al., 2017).

Die Vor- und Nachteile der Teststrategie im Vergleich zur Risikostrategie werden weltweit lebhaft diskutiert (Rao and Khanna, 2020; Seedat et al., 2019). Die Sorge einer übermäßigen antibiotischen Exposition der Mütter, Resistenzentwicklungen, Nebenwirkungen wie Anaphylaxie sowie höhere Kosten und ein größerer medizinischer Aufwand bei der Teststrategie werden als Argumente für die Risikostrategie hervorgebracht (Akker-van Marle et al., 2005; Bevan et al., 2019; Castor et al., 2008; Håkansson et al., 2008; McCall et al., 2018; Moroi et al., 2019; Steer and Plumb, 2011).

In einem Review von 2020 wurden 17 Studien aus dem Zeitraum 2015-2019 mit dem Fokus auf die Vor- und Nachteile der risiko- vs. testbasierten Strategie mit dem Ergebnis zusammengefasst, dass die screeningbasierte IAP an Effektivität der risikobasierten IAP überlegen ist (Rao and Khanna, 2020). Es gibt jedoch Einschränkungen nicht nur bezüglich der Umsetzung in Ländern mit niedrigem Einkommen, sondern auch bezüglich der neonatalen Mikrobiota (Azad et al., 2016; Nogacka et al., 2017). Eine frühzeitige Exposition gegenüber Antibiotika stellt ein Risiko für die Entwicklung metabolischer und immunologischer Erkrankungen dar (Azad et al., 2016; Castanys-Muñoz et al., 2016; Kumar et al., 2020; Nogacka et al., 2017; Shanahan and Sheehan, 2016; Yallapragada et al., 2015).

Es gibt Annahmen, dass es durch die Teststrategie zu einem vermehrten Einsatz von Antibiotika im Rahmen der IAP kommt (Bevan et al., 2019). Ein dadurch entstehender Selektionsdruck sowohl auf GBS als auch auf *E. coli* mit konsekutiv vermehrter Resistenzentwicklung könnte die Folge sein.

Zur weiteren Klärung dieser Frage führten wir die erste nationale Surveillance-Studie zur Antibiotika-Empfindlichkeit invasiver GBS- und *E. coli*-Stämme durch. Zum Zeitpunkt der Studie konnte die empirische Antibiotikatherapie mit Ampicillin plus Gentamicin bei ausreichend hoher Antibiotikaempfindlichkeit der neonatalen *E. coli*-Isolate in Deutschland als effektiv betrachtet werden (Heideking et al., 2013). Bezüglich der Antibiotikaempfindlichkeiten von GBS konnten wir bei ausgewählten Isolaten eine verringerte Penicillin-Empfindlichkeit feststellen und es wurde eine zunehmende Häufigkeit von Resistenzen gegen Nicht-Beta-Laktam-Antibiotika, einschließlich Clindamycin, Erythromycin und Fluorchinolone beobachtet, wobei einige Isolate eine Resistenz gegen

Vancomycin aufwiesen (Lohrmann et al., 2021). Als eines von vielen Ländern hat das benachbarte Polen jüngst ebenfalls eine reduzierte Penicillin-Empfindlichkeit und Makrolid-Resistenzen gemeldet (Kaminska et al., 2020). Zum Zeitpunkt unserer Studie befanden sich Resistenzen gegen Penicillin und auch Cephalosporine nicht im klinisch relevanten Bereich und Penicillin G bleibt derzeit das Mittel der Wahl (Deutsche Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin, 2008; Fröhlicher et al., 2014; Heideking et al., 2013; Lohrmann et al., 2021). Die Sorge einer zukünftigen Unwirksamkeit aktueller Präventionsstrategien vor dem Hintergrund zunehmender Resistenzentwicklungen ist nicht unbegründet. Um Selektionsprozesse und Resistenzen bei den Erregern der neonatalen Sepsis zu verhindern, wären auch bei Schwangeren Interventionen wie Antibiotic Stewardship-Programme sinnvoll (Doenhardt et al., 2020).

Risiko- und Teststrategie vergleichende Studien konnten keinen vermehrten Antibiotikaeinsatz bei der screeningbasierten IAP im Vergleich zur risikobasierten IAP feststellen (Hasperhoven et al., 2020; Schrag et al., 2002). Dennoch kann es vorkommen, dass es schwangere Frauen gibt, die im Screening zunächst GBS-positiv, dann unter der Geburt jedoch GBS-negativ waren und somit unnötigerweise eine Antibiotikaphylaxe erhalten haben (Di Renzo et al., 2015). Andersherum kann es im Streptokokken-Abstrich GBS-negative Schwangere geben, die aber unter der Geburt GBS-positiv sind. Neuere Ansätze der Testungen auf GBS mittels sogenannter „real-time“ Polymerase Kettenreaktion (PCR) sind diesbezüglich besonders interessant (Alfa et al., 2010; El Helali et al., 2019; Plainvert et al., 2018). Hierbei sorgen speziell geschulte Hebammen dafür, dass ohne Verzögerung Abstrichmaterial dem Labor zugeht. Dies wird in einem Schnell-PCR-Test auf GBS untersucht und das Ergebnis umgehend der betreuenden Hebamme mitgeteilt. Nukleinsäure-Amplifikationstechniken zeigen für GBS eine sehr hohe Spezifität und Sensitivität (Alfa et al., 2010). Point-of-Care-PCR-Tests auf GBS scheinen nicht nur die Rate der EOD-Fälle zu reduzieren, sondern auch den Antibiotika-Einsatz. Die Kosten für diesen Test stehen dabei in keinem Verhältnis zu den Kosten der Behandlung eines an GBS erkrankten Neugeborenen (El Helali et al., 2019). In Ländern mit geringem Einkommen dürfte die dafür erforderliche komplexe und kostenintensive Laborausstattung ein begrenzender Faktor sein (Rao and Khanna, 2020). Informationen über die Antibiotikaempfindlichkeit eines GBS-Isolates erhält man mittels PCR-Test allerdings nicht.

Die Limitationen der vorliegenden Studie und die möglichen Auswirkungen auf ihr Ergebnis möchte ich im Folgenden erläutern. Zur Erfüllung der mit der CRM verbundenen Bedingung, dass für beide Quellen (labor- und klinikbasiert) die gleiche Wahrscheinlichkeit besteht, neonatale GBS-Infektionen zu erfassen, mussten wir uns auf die Fälle beschränken, die laborkulturell nachgewiesen werden konnten. Die ermittelte Fallzahl in einer rein testbasierten Studie schließt die klinischen Fälle ohne positiven Labornachweis aus. Es gibt vielfältige Gründe für ein fehlendes positives Testergebnis im Labor: Ungünstige Transportbedingungen mit Verlust der GBS-Lebensfähigkeit oder die direkte Plattierung auf Agar ohne Anreicherung eines selektiven Nährmediums können bei 20 bis 50 % der Proben zu falsch negativen Ergebnissen führen. Damit wird die tatsächliche Fallzahl unterschätzt und die Anzahl neonataler GBS-Erkrankungen dürfte um ein Vielfaches höher liegen (Berner, 2003; Di Renzo et al., 2015). Möglich sind auch klinische GBS-Erkrankungen nach bzw. trotz IAP. Hier könnte die Antibiotikagabe vor Gewinnung von neonatalem Probenmaterial zwecks kulturellen Nachweises im Labor zu falsch negativen Testergebnissen geführt haben. Bei einer Effizienz der screeningbasierten IAP bezüglich EOD von über 80 % wäre das Ausmaß beschränkt (Fairlie et al., 2013; Schrag et al., 2002). Die ESPED-Daten umfassten im Gegensatz zu den RKI-Daten detaillierte klinische Informationen. Klinische Begleitumstände waren nicht inhaltlicher Bestand der laborbasierten Erfassung, sodass ein Vergleich klinischer Faktoren nur eingeschränkt bzw. gar nicht möglich war. Solide Kenntnisse über

klinische Regressoren könnten jedoch nicht zuletzt der Effektivität zukünftiger Präventionsstrategien dienlich sein. Das klinische Bild kann auch mit sogenannten genetischen Clustern verglichen und zur Identifikation entsprechender Korrelationen z.B. Multiresistenzen genutzt werden (Campisi et al., 2016; Plainvert et al., 2020). Die von uns im Rahmen der Studie gewonnenen Isolate wurden dafür zusätzlich Microarray-Analysen unterzogen (Zürn et al., 2020). Dadurch konnten sie entsprechend ihrer Virulenzfaktoren geclustert werden. Bestandteil großer epidemiologischer Studien wie der vorliegenden kann also auch die Ergänzung durch genetische Analysen sein, um zugrundeliegende Faktoren zu erkennen.

Als wichtige Virulenzfaktoren und Komponenten für den Aufbau einer Immunität im Rahmen einer potentiellen Impfung sind bestimmte Oberflächenstrukturen der GBS in den Fokus zahlreicher Forschungsarbeiten gerückt (Madhi et al., 2013; Nuccitelli et al., 2015; Pietrocola et al., 2018). *Streptococcus agalactiae* sind grampositive Kokken und die einzigen beta-hämolysierenden Streptokokken, die das Kohlenhydratantigen der Gruppe B entsprechend der Lancefield-Klassifikation tragen. GBS werden basierend auf strukturellen Unterschieden ihrer Polysaccharidhülle, die auch als CPS (capsular polysaccharide) bezeichnet wird, in die Serotypen Ia, Ib, II-IX unterteilt. Die Effektivität potentieller CPS-basierter Impfstoffe, auf deren Entwicklung man sich derzeit konzentriert, hängt von der Kenntnis der Verbreitung verschiedener CPS-Serotypen ab. Als vielversprechende Epitope werden auch Pilus-Antigene beschrieben (Fabbrini et al., 2016). Sowohl für die Kolonisation als auch für die Virulenz scheinen sie relevant zu sein. Diese Oberflächenstrukturen wie auch die Serotypenverteilung deutschlandweit wurden in Bezug auf die verschiedenen Altersklassen im Rahmen dieser Studie untersucht und liefern damit einen Beitrag zur Entwicklung eines zielgenauen Impfstoffes (Edmond et al., 2012). Wie aktuellen Berichten zu entnehmen ist, gehören zu der Zielpopulation eines potentiellen Impfstoffs auch nicht schwangere Erwachsene (Francois Watkins et al., 2019; McLaughlin et al., 2021). Auch in Deutschland treten invasive GBS in gesundheitsökonomisch relevanter Größenordnung jenseits der Neugeborenen-Periode auf, wie erstmals im Rahmen der vorliegenden Surveillance ermittelt werden konnte (Kemgne-Djomkam (Wicker) et al., 2010). Betroffen sind insbesondere ältere Patienten über 65 Jahre. Interessanterweise unterscheiden sich die Infektionen bei Neugeborenen und Erwachsenen in bestimmten Punkten, wie zum Beispiel der Serotyp-Verteilung, was nicht zuletzt für die Impfstoffentwicklung von Bedeutung ist (Lohrmann et al., 2021).

Zusammengefasst lieferte die vorliegende Studie folgende Resultate: Die Inzidenz invasiver GBS-Infektionen bei Neugeborenen ist im Vergleich zur Studie von 2001–2003 um ein Drittel gesunken. Dieser Rückgang war in erster Linie auf die Abnahme der GBS-Fallzahlen bei Neugeborenen innerhalb der ersten sieben Lebenstage (EOD) zurückzuführen und spricht für die Effektivität der Präventionsmaßnahmen in Bezug auf EOD-GBS. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit liefern einen relevanten Beitrag im weltweiten Diskurs über Nutzen und Risiko der Teststrategie im Vergleich zur Risikostrategie. Eine große Herausforderung bleiben die unverändert hohen Fallzahlen der LOD-GBS sowie die aufgeführten Sorgen und Einwände gegenüber der IAP im Rahmen der Teststrategie, die hohen Fallzahlen neonataler GBS-Erkrankungen in Ländern mit geringem Einkommen und nicht zuletzt die alarmierend hohen GBS-Fallzahlen bei den über 65-Jährigen. Eine Lösung liegt in der Herstellung eines geeigneten Impfstoffes, dessen Entwicklung bereits begonnen hat (Carreras-Abad et al., 2020; Chiarot et al., 2018; Donders et al., 2016; Heath, 2016; Heyderman et al., 2016). Damit die Impfung möglichst bald die Zielpopulationen erreichen kann, sind weitere immunologische und epidemiologische Studien erforderlich.

6 Literaturverzeichnis

- Akker-van Marle, M.E., Rijnders, M.E., Dommelen, P., Fekkes, M., Wouwe, J.P., Amelink-Verburg, M.P., and Verkerk, P.H. (2005). Cost-effectiveness of different treatment strategies with intrapartum antibiotic prophylaxis to prevent early-onset group B streptococcal disease. *Bjog* 112, 820-826. DOI: 10.1111/j.1471-0528.2005.00555.x
- Alfa, M.J., Sepehri, S., De Gagne, P., Helawa, M., Sandhu, G., and Harding, G.K. (2010). Real-time PCR assay provides reliable assessment of intrapartum carriage of group B *Streptococcus*. *J Clin Microbiol* 48, 3095-3099. DOI: 10.1128/jcm.00594-10
- Amstrup, S.C., McDonald, T.L., Manly, B.F.J. (2006). Handbook of Capture–Recapture Analysis. *Biometrics* 62, 1269–1280. DOI: doi.org/10.1515/9781400837717
- Anthony, B.F., Okada, D.M., and Hobel, C.J. (1979). Epidemiology of the group B streptococcus: maternal and nosocomial sources for infant acquisitions. *J Pediatr* 95, 431-436. DOI: 10.1016/s0022-3476(79)80530-2
- Azad, M.B., Konya, T., Persaud, R.R., Guttman, D.S., Chari, R.S., Field, C.J., Sears, M.R., Mandhane, P.J., Turvey, S.E., Subbarao, P., Becker, A.B., Scott, J.A., and Kozyrskyj, A.L. (2016). Impact of maternal intrapartum antibiotics, method of birth and breastfeeding on gut microbiota during the first year of life: a prospective cohort study. *Bjog* 123, 983-993. DOI: 10.1111/1471-0528.13601
- Baker, C.J., and Barrett, F.F. (1973). Transmission of group B streptococci among parturient women and their neonates. *J Pediatr* 83, 919-925. DOI: 10.1016/s0022-3476(73)80524-4
- Bardají, A., MacDonald, N.E., Omer, S.B., and Aguado, T. (2019). Maternal immunization: A call to accelerate progress. *Vaccine* 37, 2882-2883. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.04.031
- Berardi, A., Cattelan, C., Creti, R., Berner, R., Pietrangiolillo, Z., Margarit, I., Maione, D., and Ferrari, F. (2015). Group B streptococcal infections in the newborn infant and the potential value of maternal vaccination. *Expert Rev Anti Infect Ther* 13, 1387-1399. DOI: 10.1586/14787210.2015.1079126
- Berardi, A., Trevisani, V., Di Caprio, A., Bua, J., China, M., Perrone, B., Pagano, R., Lucaccioni, L., Fanaro, S., Iughetti, L., Lugli, L., and Creti, R. (2021). Understanding Factors in Group B *Streptococcus* Late-Onset Disease. *Infect Drug Resist* 14, 3207-3218. DOI: 10.2147/idr.S291511
- Berner, R. (2003). Infektionen durch Gruppe-B-Streptokokken in der Neonatalperiode. In *Monatsschr Kinderh* (Berlin: Springer Medizin Verlag GmbH), pp. 373-383. DOI: 10.1007/s00112-003-0696-z
- Bevan, D., White, A., Marshall, J., and Peckham, C. (2019). Modelling the effect of the introduction of antenatal screening for group B *Streptococcus* (GBS) carriage in the UK. *BMJ Open* 9, e024324. DOI: 10.1136/bmjopen-2018-024324
- Boyer, K.M., and Gotoff, S.P. (1985). Strategies for chemoprophylaxis of GBS early-onset infections. *Antibiot Chemother* 35, 267-280. DOI: 10.1159/000410380
- Brimil, N., Barthell, E., Heindrichs, U., Kuhn, M., Lütticken, R., and Spellerberg, B. (2006). Epidemiology of *Streptococcus agalactiae* colonization in Germany. *Int J Med Microbiol* 296, 39-44. DOI: 10.1016/j.ijmm.2005.11.001
- Buchberger, B., Krabbe, L., Scholl, K., and Essener Forschungsinstitut für Medizinmanagement (2017). Vaginaler und rektaler Abstrich auf B-Streptokokken in der Schwangerschaft. https://www.igel-monitor.de/fileadmin/user_upload/Streptokokken_Test_Evidenz_ausfuehrlich.pdf
- Campisi, E., Rosini, R., Ji, W., Guidotti, S., Rojas-López, M., Geng, G., Deng, Q., Zhong, H., Wang, W., Liu, H., Nan, C., Margarit, I., and Rinaudo, C.D. (2016). Genomic Analysis Reveals Multi-Drug Resistance Clusters in Group B *Streptococcus* CC17 Hypervirulent Isolates Causing Neonatal Invasive Disease in Southern Mainland China. *Front Microbiol* 7, 1265. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01265
- Carreras-Abad, C., Ramkhalawon, L., Heath, P.T., and Le Doare, K. (2020). A Vaccine Against Group B *Streptococcus*: Recent Advances. *Infect Drug Resist* 13, 1263-1272. DOI: 10.2147/idr.S203454
- Castanys-Muñoz, E., Martin, M.J., and Vazquez, E. (2016). Building a Beneficial Microbiome from Birth. *Adv Nutr* 7, 323-330. DOI: 10.3945/an.115.010694

- Castor, M.L., Whitney, C.G., Como-Sabetti, K., Facklam, R.R., Ferrieri, P., Bartkus, J.M., Juni, B.A., Cieslak, P.R., Farley, M.M., Dumas, N.B., Schrag, S.J., and Lynfield, R. (2008). Antibiotic resistance patterns in invasive group B streptococcal isolates. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2008, 727505. DOI: 10.1155/2008/727505
- Centers for Disease Control and Prevention (1996). Prevention of perinatal group B streptococcal disease: a public health perspective. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep* 45(RR-7);1-24.
<https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00043277.htm>
- Chiarot, E., Spagnuolo, A., Maccari, S., Naimo, E., Acquaviva, A., Cecchi, R., Galletti, B., Fabbrini, M., Mori, E., Ruggiero, P., Grandi, G., Fontana, M.R., Bensi, G., and Margarit, I. (2018). Protective effect of Group B Streptococcus type-III polysaccharide conjugates against maternal colonization, ascending infection and neonatal transmission in rodent models. *Sci Rep* 8, 2593. DOI: 10.1038/s41598-018-20609-5
- Committee ACOG (2020). Prevention of Group B Streptococcal Early-Onset Disease in Newborns: ACOG Committee Opinion, Number 797. *Obstet Gynecol* 135, e51-e72. DOI: 10.1097/aog.0000000000003668
- Darlow, B.A., Voss, L., Lennon, D.R., and Grimwood, K. (2016). Early-onset neonatal group B streptococcus sepsis following national risk-based prevention guidelines. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 56, 69-74. DOI: 10.1111/ajo.12378
- de Gier, B., van Kassel, M.N., Sanders, E.A.M., van de Beek, D., Hahné, S.J.M., van der Ende, A., and Bijlsma, M.W. (2019). Disease burden of neonatal invasive Group B Streptococcus infection in the Netherlands. *PLoS One* 14, e0216749. DOI: 10.1371/journal.pone.0216749
- Deutsche Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin (2008). Prophylaxe der Neugeborenenensepsis (frühe Form) durch Streptokokken der Gruppe B. AWMF-Leitlinien-Register, Nr 024/020.
https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/024-020I_S2k_Prophylaxe_Neugeborenenensepsis_Streptokokken_2016-04-abgelaufen.pdf
- Deutsches Ärzteblatt (2017). Neue Diskussion um B-Streptokokken-Test in der Schwangerschaft.
<https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/77151/Neue-Diskussion-um-B-Streptokokken-Test-in-der-Schwangerschaft>
- Di Renzo, G.C., Melin, P., Berardi, A., Blennow, M., Carbonell-Estrany, X., Donzelli, G.P., Hakansson, S., Hod, M., Hughes, R., Kurtzer, M., Poyart, C., Shinwell, E., Stray-Pedersen, B., Wielgos, M., and El Helali, N. (2015). Intrapartum GBS screening and antibiotic prophylaxis: a European consensus conference. *J Matern Fetal Neonatal Med* 28, 766-782. DOI: 10.3109/14767058.2014.934804
- Ding, Y., Wang, Y., Hsia, Y., Russell, N., and Heath, P.T. (2020). Systematic Review and Meta-Analyses of Incidence for Group B Streptococcus Disease in Infants and Antimicrobial Resistance, China. *Emerg Infect Dis* 26, 2651-2659. DOI: 10.3201/eid2611.181414
- Doenhardt, M., Seipolt, B., Mense, L., Winkler, J.L., Thürmer, A., Rüdiger, M., Berner, R., and Armann, J. (2020). Neonatal and young infant sepsis by Group B Streptococci and Escherichia coli: a single-center retrospective analysis in Germany-GBS screening implementation gaps and reduction in antibiotic resistance. *Eur J Pediatr* 179, 1769-1777. DOI: 10.1007/s00431-020-03659-8
- Donders, G.G., Halperin, S.A., Devlieger, R., Baker, S., Forte, P., Wittke, F., Slobod, K.S., and Dull, P.M. (2016). Maternal Immunization With an Investigational Trivalent Group B Streptococcal Vaccine: A Randomized Controlled Trial. *Obstet Gynecol* 127, 213-221. DOI: 10.1097/aog.0000000000001190
- Ebrahimi-Fakhari, D., Zemlin, M., Sauer, H., Poryo, M., Graf, N., and Meyer, S. (2018). Erhebungseinheit für seltene pädiatrische Erkrankungen in Deutschland (ESPED) – 25 Jahre pädiatrische Epidemiologie: Eine Bestandsaufnahme. *Klin Padiatr* 230, 215-224. DOI: 10.1055/a-0586-4365
- Edmond, K.M., Kortsalioudaki, C., Scott, S., Schrag, S.J., Zaidi, A.K., Cousens, S., and Heath, P.T. (2012). Group B streptococcal disease in infants aged younger than 3 months: systematic review and meta-analysis. *Lancet* 379, 547-556. DOI: 10.1016/s0140-6736(11)61651-6
- Edwards, J.M., Watson, N., Focht, C., Wynn, C., Todd, C.A., Walter, E.B., Heine, R.P., and Swamy, G.K. (2019). Group B Streptococcus (GBS) Colonization and Disease among Pregnant Women: A Historical Cohort Study. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2019, 5430493. DOI: 10.1155/2019/5430493

- Edwards, M.S., Nizet, V., and Baker, C.J. (2011). Group B Streptococcal Infections. In *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn*, J.S. Remington, J.O. Klein, C.B. Wilson, V. Nizet, and Y.A. Maldonado, eds. (Philadelphia: W.B. Saunders), pp. 419-469. DOI: 10.1016/B978-1-4160-6400-8.00012-2
- Eickhoff, T.C., Klein, J.O., Daly, A.K., Ingall, D., and Finland, M. (1964). NEONATAL SEPSIS AND OTHER INFECTIONS DUE TO GROUP B BETA-HEMOLYTIC STREPTOCOCCI. *N Engl J Med* 271, 1221-1228. DOI: 10.1056/nejm196412102712401
- El Helali, N., Habibi, F., Azria, E., Giovangrandi, Y., Autret, F., Durand-Zaleski, I., and Le Monnier, A. (2019). Point-of-Care Intrapartum Group B Streptococcus Molecular Screening: Effectiveness and Costs. *Obstet Gynecol* 133, 276-281. DOI: 10.1097/aog.0000000000003057
- Erhebungseinheit für seltene pädiatrische Erkrankungen in Deutschland (2008). ESPED-Jahresbericht 2008. https://www.unimedizin-mainz.de/typo3temp/secure_downloads/43045/0/b5b155c936d4c1b471b7490e1bf1b3af2e301bd1/Jahresbericht_2008.pdf
- Fabbrini, M., Rigat, F., Rinaudo, C.D., Passalacqua, I., Khacheh, S., Creti, R., Baldassarri, L., Carboni, F., Anderloni, G., Rosini, R., Maione, D., Grandi, G., Telford, J.L., and Margarit, I. (2016). The Protective Value of Maternal Group B Streptococcus Antibodies: Quantitative and Functional Analysis of Naturally Acquired Responses to Capsular Polysaccharides and Pilus Proteins in European Maternal Sera. *Clin Infect Dis* 63, 746-753. DOI: 10.1093/cid/ciw377
- Fairlie, T., Zell, E.R., and Schrag, S. (2013). Effectiveness of intrapartum antibiotic prophylaxis for prevention of early-onset group B streptococcal disease. *Obstet Gynecol* 121, 570-577. DOI: 10.1097/AOG.0b013e318280d4f6
- Flidel-Rimon, O., Galstyan, S., Juster-Reicher, A., Rozin, I., and Shinwell, E.S. (2012). Limitations of the risk factor based approach in early neonatal sepsis evaluations. *Acta Paediatr* 101, e540-544. DOI: 10.1111/apa.12013
- Fluegge, K., Siedler, A., Heinrich, B., Schulte-Moenting, J., Moennig, M.J., Bartels, D.B., Dammann, O., von Kries, R., and Berner, R. (2006). Incidence and clinical presentation of invasive neonatal group B streptococcal infections in Germany. *Pediatrics* 117, e1139-1145. DOI: 10.1542/peds.2005-2481
- Franciosi, R.A., Knostman, J.D., and Zimmerman, R.A. (1973). Group B streptococcal neonatal and infant infections. *J Pediatr* 82, 707-718. DOI: 10.1016/s0022-3476(73)80604-3
- Francois Watkins, L.K., McGee, L., Schrag, S.J., Beall, B., Jain, J.H., Pondo, T., Farley, M.M., Harrison, L.H., Zansky, S.M., Baumbach, J., Lynfield, R., Snippes Vagnone, P., Miller, L.A., Schaffner, W., Thomas, A.R., Watt, J.P., Petit, S., and Langley, G.E. (2019). Epidemiology of Invasive Group B Streptococcal Infections Among Nonpregnant Adults in the United States, 2008-2016. *JAMA Intern Med* 179, 479-488. DOI: 10.1001/jamainternmed.2018.7269
- Fröhlicher, S., Reichen-Fahrni, G., Müller, M., Surbek, D., Droz, S., Spellerberg, B., and Sendi, P. (2014). Serotype distribution and antimicrobial susceptibility of group B streptococci in pregnant women: results from a Swiss tertiary centre. *Swiss Med Wkly* 144, w13935. DOI: 10.4414/smw.2014.13935
- Gautschi, T., and Hangartner, D. (2010). Die Untersuchung verborgener Populationen: Eine Capture-Recapture-Studie mit Heroinabhängigen / Investigating Hidden Populations: A Capture-Recapture Study of Heroin Addicts. *Zeitschrift für Soziologie* 39. DOI: 10.1515/zfsoz-2010-0504
- George, E.I., and Robert, C. P. (1992). Capture-Recapture Estimation via Gibbs Sampling. *Biometrika* 79, 677-683. DOI: 10.2307/2337223
- Giannoni, E., Agyeman, P.K.A., Stocker, M., Posfay-Barbe, K.M., Heininger, U., Spycher, B.D., Bernhard-Stirnmann, S., Niederer-Loher, A., Kahlert, C.R., Donas, A., Leone, A., Hasters, P., Relly, C., Riedel, T., Kuehni, C., Aebi, C., Berger, C., and Schlapbach, L.J. (2018). Neonatal Sepsis of Early Onset, and Hospital-Acquired and Community-Acquired Late Onset: A Prospective Population-Based Cohort Study. *J Pediatr* 201, 106-114.e104. DOI: 10.1016/j.jpeds.2018.05.048
- Gopal Rao, G., Townsend, J., Stevenson, D., Nartey, G., Hiles, S., Bassett, P., Lamagni, T., and Nicholl, R. (2017). Early-onset group B Streptococcus (EOGBS) infection subsequent to cessation of screening-based intrapartum prophylaxis: findings of an observational study in West London, UK. *BMJ Open* 7, e018795. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-018795
- Håkansson, S., Axemo, P., Bremme, K., Bryngelsson, A.L., Wallin, M.C., Ekström, C.M., Granlund, M., Jacobsson, B., Källén, K., Spetz, E., and Tessin, I. (2008). Group B streptococcal carriage in Sweden: a national study on risk factors for mother and infant colonisation. *Acta Obstet Gynecol Scand* 87, 50-58. DOI: 10.1080/00016340701802888

- Håkansson, S., Källén, K., Bullarbo, M., Holmgren, P., Bremme, K., Larsson, A., Norman, M., Norén, H., Ortmark-Wrede, C., Pettersson, K., Saltvedt, S., Sondell, B., Tokarska, M., von Vultee, A., and Jacobsson, B. (2014). Real-time PCR-assay in the delivery suite for determination of group B streptococcal colonization in a setting with risk-based antibiotic prophylaxis. *J Matern Fetal Neonatal Med* 27, 328-332. DOI: 10.3109/14767058.2013.818128
- Hasperhoven, G.F., Al-Nasiry, S., Bekker, V., Villamor, E., and Kramer, B. (2020). Universal screening versus risk-based protocols for antibiotic prophylaxis during childbirth to prevent early-onset group B streptococcal disease: a systematic review and meta-analysis. *Bjog* 127, 680-691. DOI: 10.1111/1471-0528.16085
- Heath, P.T. (2016). Status of vaccine research and development of vaccines for GBS. *Vaccine* 34, 2876-2879. DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.12.072
- Heath, P.T., Balfour, G., Weisner, A.M., Efstratiou, A., Lamagni, T.L., Tighe, H., O'Connell, L.A., Cafferkey, M., Verlander, N.Q., Nicoll, A., and McCartney, A.C. (2004). Group B streptococcal disease in UK and Irish infants younger than 90 days. *Lancet* 363, 292-294. DOI: 10.1016/s0140-6736(03)15389-5
- Heath, P.T., Culley, F.J., Jones, C.E., Kampmann, B., Le Doare, K., Nunes, M.C., Sadarangani, M., Chaudhry, Z., Baker, C.J., and Openshaw, P.J.M. (2017). Group B streptococcus and respiratory syncytial virus immunisation during pregnancy: a landscape analysis. *Lancet Infect Dis* 17, e223-e234. DOI: 10.1016/s1473-3099(17)30232-3
- Heath, P.T., and Schuchat, A. (2007). Perinatal group B streptococcal disease. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 21, 411-424. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2007.01.003
- Heideking, M., Lander, F., Hufnagel, M., Pfeifer, Y., Wicker, E., Krause, G., and Berner, R. (2013). Antibiotic susceptibility profiles of neonatal invasive isolates of *Escherichia coli* from a 2-year nationwide surveillance study in Germany, 2009-2010. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 32, 1221-1223. DOI: 10.1007/s10096-013-1871-3
- Heyderman, R.S., Madhi, S.A., French, N., Cutland, C., Ngwira, B., Kayambo, D., Mboizi, R., Koen, A., Jose, L., Olugbosi, M., Wittke, F., Slobod, K., and Dull, P.M. (2016). Group B streptococcus vaccination in pregnant women with or without HIV in Africa: a non-randomised phase 2, open-label, multicentre trial. *The Lancet Infectious diseases* 16, 546-555.
- Hook, E.B., and Regal, R.R. (1995a). Capture-recapture estimation. *Epidemiology* 6, 569-570. DOI: 10.1097/00001648-199509000-00023
- Hook, E.B., and Regal, R.R. (1995b). Capture-recapture methods in epidemiology: methods and limitations. *Epidemiol Rev* 17, 243-264. DOI: 10.1093/oxfordjournals.epirev.a036192
- Horváth-Puhó, E., van Kassel, M.N., Gonçalves, B.P., de Gier, B., Procter, S.R., Paul, P., van der Ende, A., Søgaaard, K.K., Hahné, S.J.M., Chandna, J., Schrag, S.J., van de Beek, D., Jit, M., Sørensen, H.T., Bijlsma, M.W., and Lawn, J.E. (2021). Mortality, neurodevelopmental impairments, and economic outcomes after invasive group B streptococcal disease in early infancy in Denmark and the Netherlands: a national matched cohort study. *Lancet Child Adolesc Health* 5, 398-407. DOI: 10.1016/s2352-4642(21)00022-5
- Howard, J.B., and McCracken, G.H., Jr. (1974). The spectrum of group B streptococcal infections in infancy. *Am J Dis Child* 128, 815-818. DOI: 10.1001/archpedi.1974.02110310063011
- International Working Group for Disease Monitoring and Forecasting (1995b). Capture-Recapture and Multiple-Record Systems Estimation II: Applications in Human Diseases. *American Journal of Epidemiology* 142, 1059-1068. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a117559
- International Working Group for Disease Monitoring Forecasting (1995a). Capture-Recapture and Multiple-Record Systems Estimation I: History and Theoretical Development. *American Journal of Epidemiology* 142, 1047-1058. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a117558
- Jakob, A., Whelan, J., Kordecki, M., Berner, R., Stiller, B., Arnold, R., von Kries, R., Neumann, E., Roubinis, N., Robert, M., Grohmann, J., Höhn, R., and Hufnagel, M. (2016). Kawasaki Disease in Germany: A Prospective, Population-based Study Adjusted for Underreporting. *The Pediatric infectious disease journal* 35, 129-134. DOI: 10.1097/inf.0000000000000953
- Kaminska, D., Ratajczak, M., Szumala-Kąkol, A., Długaszewska, J., Nowak-Malczyńska, D.M., and Gajecka, M. (2020). Increasing Resistance and Changes in Distribution of Serotypes of *Streptococcus agalactiae* in Poland. *Pathogens* 9. DOI: 10.3390/pathogens9070526

- Kemgne-Djomkam (Wicker), E., Lander, F., Heinrich, B., Hufnagel, M., Flügge, K., von Kries, R., Krause, G., Berner, R., and Studiengruppe der ESPED (2010). Group B-streptococci: a causative agent of neonatal sepsis in elderly adults – results of a nationwide surveillance study. 10. Kongress für Infektionskrankheiten und Tropenmedizin (KIT 2010), 2306-2606/2010, Köln. DOI: 10.3205/10kit016
- Kobayashi, M., Vekemans, J., Baker, C.J., Ratner, A.J., Le Doare, K., and Schrag, S.J. (2016). Group B Streptococcus vaccine development: present status and future considerations, with emphasis on perspectives for low and middle income countries. *F1000Res* 5, 2355. DOI: 10.12688/f1000research.9363.1
- Kohli-Lynch, M., Russell, N.J., Seale, A.C., Dangor, Z., Tann, C.J., Baker, C.J., Bartlett, L., Cutland, C., Gravett, M.G., Heath, P.T., Ip, M., Le Doare, K., Madhi, S.A., Rubens, C.E., Saha, S.K., Schrag, S., Sobanjo-Ter Meulen, A., Vekemans, J., O'Sullivan, C., Nakwa, F., Ben Hamouda, H., Soua, H., Giorgakoudi, K., Ladhani, S., Lamagni, T., *et al.* (2017). Neurodevelopmental Impairment in Children After Group B Streptococcal Disease Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses. *Clin Infect Dis* 65, S190-s199. DOI: 10.1093/cid/cix663
- Körösi, M. (1887). Propositions pour arriver à une comparabilité internationale des ouvrages de recensement. In *Bulletin de l'Institut international de statistique* 2, 212. <https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k61545s.image.langEN.f220.pagination>
- Kumar, M., Singh, P., Murugesan, S., Vetizou, M., McCulloch, J., Badger, J.H., Trinchieri, G., and Al Khodor, S. (2020). Microbiome as an Immunological Modifier. *Methods Mol Biol* 2055, 595-638. DOI: 10.1007/978-1-4939-9773-2_27
- Kunze, M., Ziegler, A., Fluegge, K., Hentschel, R., Proempeler, H., and Berner, R. (2011). Colonization, serotypes and transmission rates of group B streptococci in pregnant women and their infants born at a single University Center in Germany. *J Perinat Med* 39, 417-422. DOI: 10.1515/jpm.2011.037
- Kunze, M., Zumstein, K., Markfeld-Erol, F., Elling, R., Lander, F., Prömpeler, H., Berner, R., and Hufnagel, M. (2015). Comparison of pre- and intrapartum screening of group B streptococci and adherence to screening guidelines: a cohort study. *Eur J Pediatr* 174, 827-835. DOI: 10.1007/s00431-015-2548-y
- Lander, F., Heinrich, B., Hufnagel, M., Flügge, K., von Kries, R., Berner, R., and Studiengruppe der ESPED (2010). Invasive Infektionen durch Gruppe B-Streptokokken (*Streptococcus agalactiae*) bei Neugeborenen und jungen Säuglingen in Deutschland – Aktuelle Ergebnisse der laufenden ESPED-Studie. 36. Jahrestagung der Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin, 17 - 19 Juni 2010, Saarbrücken. DOI: 10.1055/s-0030-1261466
- Le Doare, K., O'Driscoll, M., Turner, K., Seedat, F., Russell, N.J., Seale, A.C., Heath, P.T., Lawn, J.E., Baker, C.J., Bartlett, L., Cutland, C., Gravett, M.G., Ip, M., Madhi, S.A., Rubens, C.E., Saha, S.K., Schrag, S., Sobanjo-Ter Meulen, A., Vekemans, J., and Kampmann, B. (2017). Intrapartum Antibiotic Chemoprophylaxis Policies for the Prevention of Group B Streptococcal Disease Worldwide: Systematic Review. *Clin Infect Dis* 65, S143-s151. DOI: 10.1093/cid/cix654
- Libster, R., Edwards, K.M., Levent, F., Edwards, M.S., Rench, M.A., Castagnini, L.A., Cooper, T., Sparks, R.C., Baker, C.J., and Shah, P.E. (2012). Long-term outcomes of group B streptococcal meningitis. *Pediatrics* 130, e8-15. DOI: 10.1542/peds.2011-3453
- Lohrmann, F., Berg, A., Wicker, E., Imm, A., Krause, G., Zürn, K., Berner, R., Hufnagel, M., and Lander, F. (2021). Prevalence of Capsular Serotype, Pilus Island Distribution, and Antibiotic Resistance in Pediatric and Adult Invasive Group B Streptococcus Isolates: Data From a Nationwide Prospective Surveillance Study in Germany. *Pediatr Infect Dis J* 40, 76-82. DOI: 10.1097/inf.0000000000002943
- Ma, T.W.L., Chan, V., So, C.H., Hui, A.S.Y., Lee, C.N., Hui, A.P.W., So, P.L., Kong, C.W., Fung, B., and Leung, K.Y. (2018). Prevention of early onset group B streptococcal disease by universal antenatal culture-based screening in all public hospitals in Hong Kong. *J Matern Fetal Neonatal Med* 31, 881-887. DOI: 10.1080/14767058.2017.1300649
- Madhi, S.A., Dangor, Z., Heath, P.T., Schrag, S., Izu, A., Sobanjo-Ter Meulen, A., and Dull, P.M. (2013). Considerations for a phase-III trial to evaluate a group B Streptococcus polysaccharide-protein conjugate vaccine in pregnant women for the prevention of early- and late-onset invasive disease in young-infants. *Vaccine* 31 Suppl 4, D52-57. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.02.029
- Madrid, L., Seale, A.C., Kohli-Lynch, M., Edmond, K.M., Lawn, J.E., Heath, P.T., Madhi, S.A., Baker, C.J., Bartlett, L., Cutland, C., Gravett, M.G., Ip, M., Le Doare, K., Rubens, C.E., Saha, S.K., Sobanjo-Ter Meulen, A., Vekemans, J., and Schrag, S. (2017). Infant Group B Streptococcal Disease Incidence and Serotypes Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses. *Clin Infect Dis* 65, S160-s172. DOI: 10.1093/cid/cix656

- Manning, S.D., Neighbors, K., Tallman, P.A., Gillespie, B., Marrs, C.F., Borchardt, S.M., Baker, C.J., Pearlman, M.D., and Foxman, B. (2004). Prevalence of group B streptococcus colonization and potential for transmission by casual contact in healthy young men and women. *Clin Infect Dis* 39, 380-388. DOI: 10.1086/422321
- Martius, J. (1994). Zur Prophylaxe der Neugeborenen Sepsis durch Streptokokken der Gruppe B. In *Infektionserkrankungen der Schwangeren und des Neugeborenen*, K. Friese, and W. Kachel, eds. (Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag GmbH), pp. 200-204. DOI: 10.1007/978-3-662-07889-1_13
- Martius, J., Hoyme, U.B., Roos, R., and Jorch, G. (2000). Empfehlungen zur Prophylaxe der Neugeborenen Sepsis (frühe Form) durch Streptokokken der Gruppe B. *Frauenarzt*, 689-691.
- Matsubara, K., Hoshina, K., and Suzuki, Y. (2013). Early-onset and late-onset group B streptococcal disease in Japan: a nationwide surveillance study, 2004-2010. *Int J Infect Dis* 17, e379-384. DOI: 10.1016/j.ijid.2012.11.027
- McCall, S.J., Bunch, K.J., Brocklehurst, P., D'Arcy, R., Hinshaw, K., Kurinczuk, J.J., Lucas, D.N., Stenson, B., Tuffnell, D.J., and Knight, M. (2018). The incidence, characteristics, management and outcomes of anaphylaxis in pregnancy: a population-based descriptive study. *BJOG* 125, 965-971. DOI: 10.1111/1471-0528.15041
- McLaughlin, J.M., Peyrani, P., Furmanek, S., Khan, F.L., Quinn, A., Jodar, L., Ramirez, J., and Swerdlow, D.L. (2021). Burden of Adults Hospitalized With Group B Streptococcal Infection. *J Infect Dis* 224, 1170-1178. DOI: 10.1093/infdis/jiaa110
- Meyn, L.A., Moore, D.M., Hillier, S.L., and Krohn, M.A. (2002). Association of sexual activity with colonization and vaginal acquisition of group B Streptococcus in nonpregnant women. *Am J Epidemiol* 155, 949-957. DOI: 10.1093/aje/155.10.949
- Minett, F.C., and Stableforth, A.W. (1931). Streptococci of bovine origin. *The Journal of Comparative Pathology and Therapy* 44, 114. DOI: 10.1002/path.1700460104
- Moroi, H., Kimura, K., Kotani, T., Tsuda, H., Banno, H., Jin, W., Wachino, J.I., Yamada, K., Mitsui, T., Yamashita, M., Kikkawa, F., and Arakawa, Y. (2019). Isolation of group B Streptococcus with reduced β -lactam susceptibility from pregnant women. *Emerg Microbes Infect* 8, 2-7. DOI: 10.1080/22221751.2018.1557987
- Nanduri, S.A., Petit, S., Smelser, C., Apostol, M., Alden, N.B., Harrison, L.H., Lynfield, R., Vagnone, P.S., Burzlaff, K., Spina, N.L., Dufort, E.M., Schaffner, W., Thomas, A.R., Farley, M.M., Jain, J.H., Pondo, T., McGee, L., Beall, B.W., and 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 Pediatr* 173, 224-233. DOI: 10.1001/jamapediatrics.2018.4826
- Nogacka, A., Salazar, N., Suárez, M., Milani, C., Arboleya, S., Solís, G., Fernández, N., Alaez, L., Hernández-Barranco, A.M., de Los Reyes-Gavilán, C.G., Ventura, M., and Gueimonde, M. (2017). Impact of intrapartum antimicrobial prophylaxis upon the intestinal microbiota and the prevalence of antibiotic resistance genes in vaginally delivered full-term neonates. *Microbiome* 5, 93. DOI: 10.1186/s40168-017-0313-3
- Nuccitelli, A., Rinaudo, C.D., and Maione, D. (2015). Group B Streptococcus vaccine: state of the art. *Ther Adv Vaccines* 3, 76-90. DOI: 10.1177/2051013615579869
- O'Sullivan, C.P., Lamagni, T., Patel, D., Efstratiou, A., Cunney, R., Meehan, M., Ladhani, S., Reynolds, A.J., Campbell, R., Doherty, L., Boyle, M., Kapatai, G., Chalker, V., Lindsay, D., Smith, A., Davies, E., Jones, C.E., and Heath, P.T. (2019). Group B streptococcal disease in UK and Irish infants younger than 90 days, 2014-15: a prospective surveillance study. *Lancet Infect Dis* 19, 83-90. DOI: 10.1016/s1473-3099(18)30555-3
- Phares, C.R., Lynfield, R., Farley, M.M., Mohle-Boetani, J., Harrison, L.H., Petit, S., Craig, A.S., Schaffner, W., Zansky, S.M., Gershman, K., Stefonek, K.R., Albanese, B.A., Zell, E.R., Schuchat, A., and Schrag, S.J. (2008). Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999-2005. *Jama* 299, 2056-2065. DOI: 10.1001/jama.299.17.2056
- Pietrocola, G., Arciola, C.R., Rindi, S., Montanaro, L., and Speziale, P. (2018). Streptococcus agalactiae Non-Pilus, Cell Wall-Anchored Proteins: Involvement in Colonization and Pathogenesis and Potential as Vaccine Candidates. *Front Immunol* 9, 602. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00602
- Plainvert, C., El Alaoui, F., Tazi, A., Joubrel, C., Anselem, O., Ballon, M., Frigo, A., Branger, C., Mandelbrot, L., Goffinet, F., and Poyart, C. (2018). Intrapartum group B Streptococcus screening in the labor ward by Xpert® GBS real-time PCR. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 37, 265-270. DOI: 10.1007/s10096-017-3125-2

- Plainvert, C., Hays, C., Touak, G., Joubrel-Guyot, C., Dmytruk, N., Frigo, A., Poyart, C., and Tazi, A. (2020). Multidrug-Resistant Hypervirulent Group B Streptococcus in Neonatal Invasive Infections, France, 2007-2019. *Emerg Infect Dis* 26, 2721-2724. DOI: 10.3201/eid2611.201669
- Rao, G.G., and Khanna, P. (2020). To screen or not to screen women for Group B Streptococcus (*Streptococcus agalactiae*) to prevent early onset sepsis in newborns: recent advances in the unresolved debate. *Ther Adv Infect Dis* 7, 2049936120942424. DOI: 10.1177/2049936120942424
- Reinhardt, K., Weiss, S., Rosenbauer, J., Gärtner, J., and von Kries, R. (2014). Multiple sclerosis in children and adolescents: incidence and clinical picture - new insights from the nationwide German surveillance (2009-2011). *Eur J Neurol* 21, 654-659. DOI: 10.1111/ene.12371
- Russell, N.J., Seale, A.C., O'Driscoll, M., O'Sullivan, C., Bianchi-Jassir, F., Gonzalez-Guarin, J., Lawn, J.E., Baker, C.J., Bartlett, L., Cutland, C., Gravett, M.G., Heath, P.T., Le Doare, K., Madhi, S.A., Rubens, C.E., Schrag, S., Sobanjo-Ter Meulen, A., Vekemans, J., Saha, S.K., and Ip, M. (2017). Maternal Colonization With Group B Streptococcus and Serotype Distribution Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses. *Clin Infect Dis* 65, S100-s111. DOI: 10.1093/cid/cix658
- Sandler, D.P. (2002). On revealing what we'd rather hide: the problem of describing study participation. *Epidemiology* 13, 117. DOI: 10.1097/00001648-200203000-00001
- Schielke, A., Takla, A., von Kries, R., Wichmann, O., and Hellenbrand, W. (2018). Marked Underreporting of Pertussis Requiring Hospitalization in Infants as Estimated by Capture-Recapture Methodology, Germany, 2013-2015. *Pediatr Infect Dis J* 37, 119-125. DOI: 10.1097/inf.0000000000001698
- Schöneberg, K.W., P, Klotz, S., Venzke, O., and Wulff, M. (2016). Branchenanalyse Laboranalytik: Wirtschaftliche Trends, Beschäftigungsentwicklung, Arbeits- und Gehaltsbedingungen. In STUDY. https://www.boeckler.de/pdf/p_study_hbs_342.pdf
- Schrag, S.J., Farley, M.M., Petit, S., Reingold, A., Weston, E.J., Pondo, T., Hudson Jain, J., and Lynfield, R. (2016). Epidemiology of Invasive Early-Onset Neonatal Sepsis, 2005 to 2014. *Pediatrics* 138. DOI: 10.1542/peds.2016-2013
- Schrag, S.J., and Verani, J.R. (2013). Intrapartum antibiotic prophylaxis for the prevention of perinatal group B streptococcal disease: experience in the United States and implications for a potential group B streptococcal vaccine. *Vaccine* 31 Suppl 4, D20-26. DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.11.056
- Schrag, S.J., Zell, E.R., Lynfield, R., Roome, A., Arnold, K.E., Craig, A.S., Harrison, L.H., Reingold, A., Stefonek, K., Smith, G., Gamble, M., and Schuchat, A. (2002). A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates. *N Engl J Med* 347, 233-239. DOI: 10.1056/NEJMoa020205
- Schrag, S.J., Zywicki, S., Farley, M.M., Reingold, A.L., Harrison, L.H., Lefkowitz, L.B., Hadler, J.L., Danila, R., Cieslak, P.R., and Schuchat, A. (2000). Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *N Engl J Med* 342, 15-20. DOI: 10.1056/nejm200001063420103
- Schuchat, A. (1999). Group B streptococcus. *Lancet* 353, 51-56. DOI: 10.1016/S0140-6736(98)07128-1
- Seale, A.C., Bianchi-Jassir, F., Russell, N.J., Kohli-Lynch, M., Tann, C.J., Hall, J., Madrid, L., Blencowe, H., Cousens, S., Baker, C.J., Bartlett, L., Cutland, C., Gravett, M.G., Heath, P.T., Ip, M., Le Doare, K., Madhi, S.A., Rubens, C.E., Saha, S.K., Schrag, S.J., Sobanjo-Ter Meulen, A., Vekemans, J., and Lawn, J.E. (2017). Estimates of the Burden of Group B Streptococcal Disease Worldwide for Pregnant Women, Stillbirths, and Children. *Clin Infect Dis* 65, S200-s219. DOI: 10.1093/cid/cix664
- Sedlmeier, P., and Renkewitz, F. (2007). *Forschungsmethoden und Statistik in der Psychologie* (München: Pearson Studium)
- Seedat, F., Geppert, J., Stinton, C., Patterson, J., Freeman, K., Johnson, S.A., Fraser, H., Brown, C.S., Uthman, O.A., Tan, B., Robinson, E.R., McCarthy, N.D., Clarke, A., Marshall, J., Visintin, C., Mackie, A., and Taylor-Phillips, S. (2019). Universal antenatal screening for group B streptococcus may cause more harm than good. *Bmj* 364, l463. DOI: 10.1136/bmj.l463
- Shanahan, F., and Sheehan, D. (2016). Microbial contributions to chronic inflammation and metabolic disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 19, 257-262. DOI: 10.1097/mco.0000000000000282
- Statistisches Bundesamt (2007). Großstädte in Deutschland. In Regionales. <https://www.destatis.de/DE/Themen/Laender-Regionen/Regionales/Gemeindeverzeichnis/zensus-grosstaedte-einwohner.html:%20Statistisches%20Bundesamt>

- Steer, P.J., and Plumb, J. (2011). Myth: Group B streptococcal infection in pregnancy: comprehended and conquered. *Semin Fetal Neonatal Med* 16, 254-258. DOI: 10.1016/j.siny.2011.03.005
- Vekemans, J., Moorthy, V., Friede, M., Alderson, M.R., Sobanjo-Ter Meulen, A., Baker, C.J., Heath, P.T., Madhi, S.A., Mehring-Le Doare, K., Saha, S.K., Schrag, S., and Kaslow, D.C. (2019). Maternal immunization against Group B streptococcus: World Health Organization research and development technological roadmap and preferred product characteristics. *Vaccine* 37, 7391-7393. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.09.087
- Verani, J.R., and Schrag, S.J. (2010). Group B streptococcal disease in infants: progress in prevention and continued challenges. *Clin Perinatol* 37, 375-392. DOI: 10.1016/j.clp.2010.02.002
- von Kries, R.H., B. Hermann, M. (2001). Pädiatrische Epidemiologie in Deutschland: Forschungsinstrument ESPED (Erhebungseinheit für seltene pädiatrische Erkrankungen in Deutschland). In *Monatsschr Kinderh* (Berlin: Springer Medizin Verlag GmbH), pp. 1191-1197
- Wang, X., He C.Z., Sun D. (2007). Bayesian Population Estimation for Small Sample Capture-recapture Data Using Noninformative Priors. *Journal of Statistical Planning and Inference* 137, 1099-1118. DOI: 10.1016/j.jspi.2006.03.004
- Wicker, E., Lander, F., Weidemann, F., Hufnagel, M., Berner, R., and Krause, G. (2019). Group B Streptococci: Declining Incidence in Infants in Germany. *Pediatr Infect Dis J* 38, 516-519. DOI: 10.1097/inf.0000000000002115
- Yallapragada, S.G., Nash, C.B., and Robinson, D.T. (2015). Early-Life Exposure to Antibiotics, Alterations in the Intestinal Microbiome, and Risk of Metabolic Disease in Children and Adults. *Pediatr Ann* 44, e265-269. DOI: 10.3928/00904481-20151112-09
- Zangwill, K.M., Schuchat, A., and Wenger, J.D. (1992). Group B streptococcal disease in the United States, 1990: report from a multistate active surveillance system. In *MMWR CDC Surveill Summ*;41(no SS-6). <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00019571.htm>
- Zimmermann, P., Gwee, A., and Curtis, N. (2017). The controversial role of breast milk in GBS late-onset disease. *J Infect* 74 Suppl 1, S34-s40. DOI: 10.1016/s0163-4453(17)30189-5
- Zürn, K., Lander, F., Hufnagel, M., Monecke, S., and Berner, R. (2020). Microarray Analysis of Group B Streptococci Causing Invasive Neonatal Early- and Late-onset Infection. *Pediatr Infect Dis J* 39, 449-453. DOI: 10.1097/inf.0000000000002627

7 Anhang

7.1 Anhang A: Initiales Anschreiben

Robert Koch-Institut | Postfach 650261 | 13302 Berlin

KLG Krankenhaus-Labor-Gesellschaft
Abt. Bakteriologie - Dr. Buchta -
Ginnheimer Landstr. 86
60487 Frankfurt am Main

**Invasive Infektionen
durch *Streptococcus agalactiae* und *Escherichia coli***

Sehr geehrte Kolleginnen und Kollegen,

das RKI als zentrale Einrichtung der Bundesregierung auf dem Gebiet der Krankheitsüberwachung und -prävention beabsichtigt in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Freiburg bzw. der Erhebungseinheit für seltene pädiatrische Erkrankungen in Deutschland (ESPED), eine Studie zu invasiven Infektionen durch *Streptococcus agalactiae* (Gruppe B-Streptokokken/ GBS) und *Escherichia coli* durchzuführen.

Hintergrund für die aktuelle Studie ist die Tatsache, dass neue Leitlinien zur Prophylaxe der Neugeborenenrose durch *Streptococcus agalactiae* formuliert wurden und die Fragestellung, ob diese möglicherweise einen Einfluss auf Resistenzentwicklungen bei *Escherichia coli* haben. Zudem wurde in anderen Ländern eine Zunahme von invasiven *Streptococcus agalactiae*-Infektionen bei Erwachsenen beobachtet.

Um diese Fragestellungen zu beantworten, untersuchen wir von Januar 2009 bis Dezember 2010 in ganz Deutschland Fälle von invasiven *Streptococcus agalactiae* in allen Altersgruppen sowie *Escherichia coli* bei Säuglingen im Alter von 0 bis 90 Tagen.

Wenn der Nachweis dieser Erreger zum Tätigkeitsbereich Ihres Labors gehört, bitten wir Sie, an dieser Studie teilzunehmen. (Falls Sie ein externes Labor beauftragen, bitten wir Sie uns die entsprechende Anschrift mitzuteilen oder dieses Schreiben weiterzuleiten.)

Die Teilnahme würde sich auf folgende Aufgaben beschränken:

- ✓ Monatliches Ausfüllen und Rücksenden eines einseitigen Fragebogens an das RKI, Berlin (Muster des Fragebogens im Anhang)
- ✓ Zusendung von *Streptococcus agalactiae*- bzw. *Escherichia coli*-Isolaten aus normalerweise sterilen Körperflüssigkeiten (Blut, Liquor, Punkate)

**Abteilung für
Infektionsepidemiologie**

20.11.2008

Unser Zeichen:
3/GBS-*E.coli*-Studie/2008

Kemgne-
DjomkamE@rki.de
Durchwahl: 030 18754 -3402
Fax 030 18754 -3533
Liegenschaft: S

zentrale@rki.de
Tel. +49 (0)30 18754 - 0
Fax +49 (0)30 18754 - 2328
IVBB-Rufnr. 754 - 0
www.rki.de

Besucheranschriften:
Nordufer 20 (N)
13353 Berlin
Seestraße 10 (S)
13353 Berlin
G.-Pape-Str. 62-66 (G)
12101 Berlin
Burgstr. 37 (W)
38855 Wernigerode

Das Robert Koch-Institut ist
ein Bundesinstitut
im Geschäftsbereich des
Bundesministeriums für
Gesundheit

an das bakteriologische Labor des Universitätsklinikum Freiburg zur
Serotypisierung und Testung der Antibiotika-Empfindlichkeit.

Das Projekt ist vom zuständigen Datenschutzbeauftragten befürwortet
worden. Eine ausführliche Projektbeschreibung senden wir Ihnen gerne auf
Wunsch zu.

Eventuelle Rückfragen richten Sie bitte an Frau Kemgne

Tel.: 0162 / 54 300 80

E-Mail: Kemgne-DjomkamE@rki.de

Wir wären Ihnen auf jeden Fall sehr dankbar, wenn Sie uns Ihre
Entscheidung über den umseitigen Antwortbogen bis zum 05.12.2008
zusenden.

Wir würden uns sehr über eine Zusammenarbeit mit Ihnen freuen.

Mit freundlichen Grüßen
im Auftrag



Priv.-Doz. Dr. med. Gérard Krause
Leiter der Abteilung für Infektionsepidemiologie

7.2 Anhang B: Teilnahmeerklärung

Absender: Kreiskrankenhaus Freiberg
 Abt. Labordiagnostik/ Bakteriologie
 Donatsring 20
 09599 Freiberg

Bitte Rücksendung per Fax an:
030 / 18 754-3533

Invasive Infektionen **durch *Streptococcus agalactiae* und *Escherichia coli***

Teilnahmeerklärung:

- ☐ Ja, unser Labor nimmt an der Studie teil.
 Bitte senden Sie uns den monatlichen Fragebogen zu.
- ☐ Nein, wir nehmen an der Studie nicht teil.
 Begründung:
- ☐ Wir untersuchen keine invasiven *Streptococcus agalactiae*-
 und keine invasiven *Escherichia coli*-Infektionen.
- ☐ Andere Gründe: _____

Ungeachtet Ihrer Entscheidung bezüglich der Teilnahme bitten wir Sie auf jeden Fall die folgenden Fragen zu beantworten:

1. Wie viele *Streptococcus agalactiae*-Infektionen haben Sie in primär sterilen Körperflüssigkeiten im Jahr 2007 insgesamt nachgewiesen? ca. _____
 (Alle Altersgruppen)
2. Wie viele *Escherichia coli*-Infektionen haben Sie in primär sterilen Körperflüssigkeiten im Jahr 2007 insgesamt nachgewiesen? ca. _____
 (Säuglinge 0≤90 Tage)

Ansprechpartner in unserem Labor für diese Studie ist:

Name: _____ Telefon: _____

E-Mail: _____

Datum: _____ Unterschrift/Stempel: _____

7.3 Anhang C: Monatliches Anschreiben

ROBERT KOCH INSTITUT



Abteilung für
Infektionsepidemiologie

Robert Koch-Institut | DGZ-Ring 1 | 13086 Berlin

Ärzte für Labormedizin, Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie
Partnerschaftsgesellschaft Dr. med. M. Enders
Dr. Regnath
Rosenbergstr. 85
70193 Stuttgart

01. September 2010

Invasive Infektionen durch *Streptococcus agalactiae* und *Escherichia coli*

Sehr geehrte Kolleginnen, sehr geehrte Kollegen,

für Ihre Unterstützung bei der epidemiologischen Erfassung invasiver Infektionskrankheiten durch

- ⇒ *Streptococcus agalactiae* bei Personen jeden Alters
und
- ⇒ *Escherichia coli* bei Säuglingen, 0. bis einschließlich **6. Lebensmonat (erweitert)**

aus normalerweise sterilen Körperflüssigkeiten (Blut, Liquor, Punktat) möchten wir uns bedanken.

Bitte füllen Sie für jeden Patienten den beiliegenden **Fragebogen** aus und senden ihn an das Robert Koch-Institut per Fax an 030 / 18 754-3533.

Bitte schicken Sie außerdem Ihre Isolate zum Zwecke der Erregertypisierung und Resistenzbestimmung unter Beifügung des beiliegenden **Begleitscheins** an:

Prof. Dr. R. Berner
Bakteriologisches Labor
Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin
Mathildenstr. 1
79106 Freiburg

Tel.: 0761 / 270 4480

Um eine Vollständigkeit der Erfassung sicherzustellen, bitten wir Sie, die rückseitige **Monatsabfrage** auszufüllen und bis zum

15. September 2010

an das Robert Koch-Institut per Fax an 030 / 18 754-3533 zu senden
(auch wenn Sie keine entsprechenden Befunde im Berichtszeitraum hatten).

Vielen Dank für Ihre Mühe.

Mit freundlichen Grüßen

gez. Priv.-Doz. Dr. med. Gérard Krause
Leiter der Abteilung für Infektionsepidemiologie

7.4 Anhang D: Fragebogen

Robert Koch-Institut / Abteilung 3: Infektionsepidemiologie

Fragebogen bitte zurücksenden per Fax an:

Fax-Nr.: 030 / 18 754-3533

oder an

Robert Koch-Institut
Abteilung für Infektionsepidemiologie
DGZ-Ring 1
13086 Berlin

Abs.:
(Stempel)

Evtl. Labornummer:

**Invasive Infektionen
durch *Streptococcus agalactiae* und *Escherichia coli***

Für jede Person werden folgende Angaben erbeten
(weitere Bögen bitte anfordern oder kopieren):

Nachweis des folgenden Erregers in normalerweise sterilen Körperflüssigkeiten (wie Blut, Liquor, Punktat):

Escherichia coli
0. bis einschließlich 6. Lebensmonat

☐

Streptococcus agalactiae
Alle (jedes Alter)

☐

Ihre Untersuchungsnummer

Vorname / Nachname
(jeweils zweiter Buchstabe)

| X | | / | X | |
(Vorname) (Nachname)

Geschlecht

männlich ☐ weiblich ☐ unbekannt ☐

Geburtsdatum (Monat und Jahr)

| XX | . | | | . | | |
(Monat) (Jahr)

Falls zutreffend:

☐ 0. ≤ 6. Lebensstag☐ 7. ≤ 90. Lebensstag

Wohnort-PLZ (die ersten 3 Ziffern)

| | | | X | X |

Datum der Probenentnahme

| | . | | . 2010
(Falls Entnahmedatum nicht verfügbar,
Eingangsdatum der Probe im Labor:
| | . | | . 2010)

Probenmaterial
(primär steriles Material)

Blut ☐ Liquor ☐ Pleura-Punktat ☐ Unbekannt ☐

Sonstiges ☐ ⇒ _____

Herkunft der Probe

Kinderklinik ☐ Sonstige ☐ ⇒ _____

Klinische Diagnose

Sepsis ☐ Pneumonie ☐ Arthritis ☐ Osteomyelitis ☐

Sonstige ☐ ⇒ _____

Materialeinsendung ans Labor
Freiburg erfolgt?

ja ☐nein ☐

Rückfragen richten Sie bitte an Frau Kemgne unter: 0162/ 54 300 80 oder Kemgne-DjomkamE@rki.de

7.5 Anhang E: Monatsabfrage

Monatsabfrage bitte zurücksenden an:

Fax-Nr.: 030 / 18 754-3533

oder an

Robert Koch-Institut
Abteilung für Infektionsepidemiologie
DGZ-Ring 1
13086 Berlin

Abs.:
(Stempel)

Evtl. Labornummer:

**Invasive Infektionen
durch *Streptococcus agalactiae* und *Escherichia coli***

Um eine Vollständigkeit der Erfassung sicherzustellen, bitten wir Sie, die Gesamtzahl der *Streptococcus agalactiae*- und der *Escherichia coli*-Fälle für den vergangenen Monat mitzuteilen.

Anzahl der Nachweise folgender Erreger in **normalerweise sterilen Körperflüssigkeiten** insgesamt für den Monat

März 2009:

<i>Escherichia coli</i> Säuglinge 0 ≤ 90 Tage Gesamtzahl:	<i>Streptococcus agalactiae</i> Alle (jedes Alter) Gesamtzahl:
---	--

Falls Sie uns die Monatsabfrage per E-Mail zu senden möchten, nutzen Sie bitte folgende Adresse: Kemgne-DjomkamE@rki.de

9 Publikationsliste

Weitere Publikationen sind im Kontext meiner Promotionsarbeit entstanden. Im Folgenden sind die Publikationen mit mir als Co-Autorin aufgelistet:

- In The Pediatric Infectious Disease Journal (2021):

Prevalence of Capsular Serotype, Pilus Island Distribution, and Antibiotic Resistance in Pediatric and Adult Invasive Group B Streptococcus Isolates: Data From a Nationwide Prospective Surveillance Study in Germany

F. Lohrmann	Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, University Medical Center Freiburg, Germany; Spemann Graduate School of Biology and Medicine (SGBM), Faculty of Biology; IMM-PACT Clinician Scientist Program, Faculty of Medicine, Freiburg, Germany
A. Berg	Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, University Medical Center Freiburg, Germany; Department for Gynecology and Obstetrics, DRK Hospital Westend, Berlin, Germany
E. Wicker	Department of Anaesthesiology and Operative Intensive Care Medicine, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany
A. Imm	Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, University Medical Center Freiburg, Germany
G. Krause	Epidemiology Department, Helmholtz Centre for Infection Research, Braunschweig, Germany; Institute for Infectious Disease Epidemiology, TWINCORE, Hannover, Germany; Translational Infrastructure Epidemiology, German Centre for Infection Research (DZIF), Braunschweig, Germany
K. Zürn	Department of Pediatrics, University Hospital Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden, Dresden, Germany
R. Berner	Department of Pediatrics, University Hospital Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden, Dresden, Germany
M. Hufnagel	Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, University Medical Center Freiburg, Germany
F. Lander	Department of Pediatrics, University Hospital Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden, Dresden, Germany

- In European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (2013):

Antibiotic susceptibility profiles of neonatal invasive isolates of Escherichia coli from a 2-year nationwide surveillance study in Germany, 2009-2010

M. Heideking	Center for Pediatrics and Adolescent Medicine, University Medical Center Freiburg, Germany
F. Lander	Center for Pediatrics and Adolescent Medicine, University Medical Center Dresden, Germany
M. Hufnagel	Center for Pediatrics and Adolescent Medicine, University Medical Center Freiburg, Germany
Y. Pfeifer	Nosocomial Infections, Robert Koch Institute, Wernigerode, Germany
E. Wicker	Infectious Disease Epidemiology, Robert Koch Institute, Berlin, Germany
G. Krause	Infectious Disease Epidemiology, Robert Koch Institute, Berlin, Germany
R. Berner	Center for Pediatrics and Adolescent Medicine, University Medical Center Dresden, Germany

- 10. Kongress für Infektionskrankheiten und Tropenmedizin (KIT 2010), Köln (2010):

Group B-streptococci: a causative agent of neonatal sepsis in elderly adults – results of a nationwide surveillance study

E. Wicker (Kemgne-Djomkam)	Robert Koch Institut, Abteilung für Infektionsepidemiologie, Berlin, Germany
F. Lander	Universitätsklinikum Freiburg, Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin, Freiburg, Germany
B. Heinrich	Universitätsklinikum Düsseldorf, Erfassungseinheit seltener pädiatrischer Erkrankungen (ESPED) in Deutschland, Düsseldorf, Germany
M. Hufnagel	Universitätsklinikum Freiburg, Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin, Freiburg, Germany
K. Flügge	Universitätsklinikum Freiburg, Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin, Freiburg, Germany
R. von Kries	Universitätsklinikum Düsseldorf, Erfassungseinheit seltener pädiatrischer Erkrankungen (ESPED) in Deutschland, Düsseldorf, Germany
G. Krause	Robert Koch Institut, Abteilung für Infektionsepidemiologie, Berlin, Germany
R. Berner	Universitätsklinikum Freiburg, Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin, Freiburg, Germany

Prevalence of Capsular Serotype, Pilus Island Distribution, and Antibiotic Resistance in Pediatric and Adult Invasive Group B *Streptococcus* Isolates: Data From a Nationwide Prospective Surveillance Study in Germany

Florens Lohrmann, MD, *†‡ Angela Berg, MD, *§ Esther Wicker, MD, ¶ Anita Imm, * Gérard Krause, MD, || **†† Katharina Zürn, MD, ‡‡ Reinhard Berner, MD, ‡‡ Markus Hufnagel, MD, * and Fabian Lander, MD ‡‡

Abstract: For neonates, group B *Streptococcus* is life threatening. Current prevention strategies remain insufficient, especially for cases of late-onset sepsis, where intrapartum antibiotic prophylaxis has demonstrated no benefit. One promising approach is the vaccination of pregnant women, which offers protective immunity via transplacental transmission of neutralizing antibodies. Our nationwide, prospective surveillance study aimed to characterize the prevalence of pilus antigen, capsular polysaccharide serotypes, and antibiotic resistance from invasive GBS infections in neonates and compare these results with those from children and adults in Germany. Our study includes 173 neonatal isolates of a total of 450 reported cases during the study period (incidence: 0.34/1000 live births), in addition to 2 pediatric and 803 adult isolates. The comparison between neonatal and adult isolates reveals age-dependent differences in capsular serotype and pilus type distribution and differences in antibiotic resistance patterns.

Key Words: group B *Streptococcus*, serotype, pilus island, antibiotic resistance

(*Pediatr Infect Dis J* 2021;40:76–82)

Group B *Streptococcus* (GBS, also termed *Streptococcus agalactiae*) is one of the leading causative agents of neonatal sepsis and meningitis. Contributing substantially to perinatal mortality, GBS has an estimated 147,000 lethal cases annually, including stillbirths.¹ Adults, primarily those with underlying medical conditions such as diabetes mellitus, heart disease, or malignancies, also are at risk of life-threatening infections.² Elderly patients, which in our

study were defined as >65 years of age, have an especially high incidence.³ In a range of Western countries, morbidity and mortality are increasing in adults with underlying conditions.^{4–6}

Standardized screening and antibiotic prophylaxis programs for colonized pregnant women have been successful in reducing the incidence of early-onset neonatal sepsis (EOD) (ie, the occurrence of symptoms during the first 7 days of life), but such measures have failed to provide benefits in relation to the incidence of late-onset sepsis in neonates and infants.^{7,8} EOD prevention strategy relies on screening for GBS carrier status during late pregnancy and on intrapartum antibiotic prophylaxis in the event of a positive GBS screening result. However, the positive predictive value of the screening test can be as low as 70%, and sensitivity has been reported at approximately 90%.⁹ These screening limitations frequently lead to unnecessary antibiotic treatment, as well as to missed cases (those that do not receive intrapartum antibiotic prophylaxis despite a positive carrier status). To further complicate the situation, a large proportion of newborns with GBS disease are born to mothers with documented negative carrier status.¹⁰ This suggests that there are dynamic changes in GBS carrier status during late pregnancy.

It has been postulated that a vaccine against GBS during pregnancy may provide an efficient and safe way to reduce the disease burden in both early-onset and late-onset disease. Capsular polysaccharides are major virulence factors, as well as potential vaccine antigens.¹¹ Indeed, preliminary studies repeatedly have shown that multivalent conjugate vaccines of capsular polysaccharides linked to antigenic proteins such as tetanus toxoid lead to sustained antibody levels in both the mother and the neonate.¹² A vaccine also has been successfully tested in the elderly.³ Pilus antigens have emerged as potential vaccine targets because they are conserved across all GBS strains and abundantly expressed on the surface of GBS.¹³ Transplacental protection has been reported in mice,¹⁴ and an inverse correlation between maternal antipilus antibodies and the risk of GBS transmission to the newborn has been described.¹⁵ Pilus polymers have been described as relevant to colonization and also as a virulence factor in mouse models,^{16,17} due to the polymers' ability to facilitate cellular adherence to the vaginal epithelium.¹⁸ Nevertheless, a pathogenetically relevant role for human disease remains unknown. For this reason, we wanted to compare pilus island distribution among adults with neonatal disease. In doing so, we found a distinct prevalence. Potentially, this may indicate a different kind of pathogenic role for pilus polymers. In addition, by reporting on the pilus island epidemiology in Germany, our study helps to determine the epitopes that will be required for vaccine design.

Our study is based upon GBS samples collected during a prospective, nationwide, active surveillance study of invasive GBS infections during the years 2009–2010 in Germany. We recently reported on the development of neonatal sepsis incidence based upon the neonatal isolates of the same patient cohort.⁷

Accepted for publication August 23, 2020.

From the *Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, University Medical Center, Medical Faculty, †Spemann Graduate School of Biology and Medicine (SGBM), Faculty of Biology, ‡IMM-PACT Clinician Scientist Program, Faculty of Medicine, Freiburg, Germany; §Department for Gynecology and Obstetrics, DRK Hospital Westend, Berlin, Germany; ¶Department of Anaesthesiology and Operative Intensive Care Medicine, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany; ||Epidemiology Department, Helmholtz Centre for Infection Research, Braunschweig, Germany; **Institute for Infectious Disease Epidemiology, TWINCORE, Hannover, Germany; ††Translational Infrastructure Epidemiology, German Centre for Infection Research (DZIF), Braunschweig, Germany; and ‡‡Department of Pediatrics, University Hospital Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden, Dresden, Germany.

Supported in part by the European Commission Seventh Framework (grant agreement number 200481) as part of the DEVANI program.

The authors have no funding or conflicts of interest to disclose.

Supplemental digital content is available for this article. Direct URL citations appear in the printed text and are provided in the HTML and PDF versions of this article on the journal's website (www.pidj.com).

Address for correspondence: Fabian Lander, Department of Pediatrics, University Hospital Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden, Fetscherstraße 74, 01307 Dresden, Germany. E-mail: fabian.lander@uniklinikum-dresden.de.

Copyright © 2020 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

ISSN: 0891-3668/21/4001-0076

DOI: 10.1097/INF.0000000000002943

MATERIALS AND METHODS

Case Definition

Our study defined a case of invasive GBS infection as a GBS isolate in any sample obtained from a normally sterile body site (eg, blood, cerebrospinal, or synovial fluid). Samples were collected from January 1, 2009, through December 31, 2010, in Germany.

Sample Acquisition

Our method of sample acquisition previously has been described in greater detail.^{7,19} In brief, we collected GBS samples and patient characteristics data from clinical isolates obtained from 2 independent sources [ie, capture-recapture method¹⁹; from the German Pediatric Surveillance Unit/Survey of Rare Diseases (<http://www.esped.uni-duesseldorf.de/>)] and from microbiology laboratories across Germany. We did not apply any selection procedure with regard to geography or hospital size, thereby ensuring a representative patient cohort.

Before submitting data, laboratories undertook a pseudonymization of patient identities—a procedure approved by the RKI's [Robert Koch-Institut (German federal government agency for disease control and prevention)] data confidentiality officer. The study was approved by the ethics committee of Freiburg (No. 216/08 and 217/08).

The patient age range is shown in Figure 1A. The age at disease onset was applied for age classification.

GBS Strain Characterization

Bacterial culture and proof of GBS purity were done via Christie-Atkins-Munch-Peterson testing, as described previously.²⁰ Capsular serotyping was performed by standardized latex agglutination tests (ImmuLex STREP-B-Kit, SSI Denmark, Hillerød, Denmark). A modified protocol was used as described previously.²¹ Capsular genotypes of a predefined number of samples were determined by multiplex polymerase chain reaction as described previously²²: first 50 isolates of capsular types Ia, III, V; 75 isolates of type Ib; and all isolates of types II, IV, VI–IX as well as all nontypeable isolates. The isolates were chosen according to their order of arrival in the study laboratory. In cases where latex agglutination and PCR returned conflicting results, the PCR result was used for further classification of the GBS serotype. Nineteen isolates (1.9%) yielded inconclusive results. These were classified as *not determinable*.

A predefined number of isolates was subjected to pilus island multiplex PCR analysis as described previously¹⁵: 20 isolates of capsular type Ia, V; 10 isolates of types Ib, II, IV; 30 isolates of type III; and all isolates of types VI–IX. The number of isolates to be tested was determined according to the expected frequencies of serotypes in the study population. The isolates were chosen according to their order of arrival. Due to limited testing resources, it was necessary to limit the selection.

Antibiotic Resistance

Resistance testing was performed according to the EUCAST standard procedure (http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/calibration_and_validation/). Agar diffusion testing was performed with ampicillin, cefotaxime, linezolid, vancomycin, clindamycin, and erythromycin. E-testing (bioMérieux, Marcy l'Étoile, France) was performed for penicillin G, gentamicin, cefotaxime, erythromycin, and clindamycin. Inducible clindamycin resistance (macrolide-lincosamide-streptogramin B-phenotype) was analyzed by double disk-testing for all isolates that tested resistant for erythromycin. All isolates were tested for antibiotic resistance. Because penicillin sensitivity implies ampicillin sensitivity, only a subset of isolates (386 of 978 isolates) was tested for

ampicillin resistance. This was done to confirm the expected sensitivity. Of 219 erythromycin-resistant isolates, 217 were tested with a double-disk test.

Statistical Analyses

Association significance between different bacterial and patient features (eg, association between age and antibiotic resistance) was calculated using GraphPad's online tool "Quickcalcs" (<https://www.graphpad.com/quickcalcs/>), as well as using Fisher's exact test with two-tailed *P* values. *P* values below 0.05 were considered statistically significant. For comparison of more than 2 groups, χ^2 calculation was used, with *P* values below 0.05 being considered statistically significant. The association between serotype and pilus antigen was calculated as relative risk [including 95% confidence intervals (CI)]. This was done using GraphPad 8 with a Koopman asymptotic score and Fisher's exact test to calculate *P* values.

RESULTS

A total of 1088 GBS samples, isolated between January 1, 2009, and December 31, 2010, were sent to our research laboratory in Freiburg, Germany. Of those, 110 isolates (ie, 10.1 %) had to be excluded either due to missing clinical information or due to inadequate sample acquisition or preparation (eg, because of nonsterile body samples or due to contaminants). The remaining 978 invasive GBS isolates were specifically analyzed. Sample sizes are summarized in Figure (Supplemental Digital Content 1, <http://links.lww.com/INF/E163>).

The overall age distribution showed a peak during the first days of life. During the course of the first year of life, it decreased, showing just 17.7% of all isolates collected from patients <1 year of age (Fig. 1A). Of note, 73.3% (44/60) of all isolates from EOD cases were taken during the first 24 hours of life. Invasive GBS disease is rare during childhood over 1 year of age. Our study included only 2 samples from patients 1–17 years old. Invasive GBS disease is infrequent during young adulthood but incidence peaks again among the elderly >65 years of age. From this patient cohort, a total of 53.5% (523/978) of samples was collected (Fig. 1A). There were slightly more male patients than female patients (53.4% of all samples; Fig. 1B). The primary origin of the isolates were blood samples (85.5% of all isolates; Fig. 1C). In the infant cohort, cerebrospinal fluid was the second most common isolation site (7.5%), whereas in the adult cohort, GBS was found in the synovial fluid in 8.6% of all cases, followed by, in order of frequency, intraoperative swaps, ascites, abscess drainage, cerebrospinal fluid, bone biopsies, and pleural fluid (Fig. 1C).

Serotype III was the most frequently isolated serotype in the total cohort (31.5% of all isolates; primarily found in infant isolates [ie, 68.2% of infant isolates]; Fig. 2), followed by serotype V with 25.1% (primarily found in adult isolates [ie, 29.1%]), and serotype Ia with 21.5% (Fig. 2). Serotypes Ib and II mainly were present in the adult cohort (12.0% and 8.2%, respectively). The capsule polysaccharide serotype of the 2 isolates from the patients 1–17 years of age was Ia and V (not shown in Fig. 2).

Pilus antigen distribution was determined in 173 of 978 isolates (see Methods section for selection algorithm). Across all ages, the combination of PI-1 + PI-2a was most frequent, with 37.6%, followed by the combination of PI-1 + PI-2b (24.9%). Of all isolates analyzed, 10.4% yielded either no results or else an inconclusive result. In the infant cohort, the combination of PI-1 + PI-2b dominated (*n* = 31; 43.1%), followed by PI-2a (*n* = 15; 20.8%), and the combination of PI-1 + PI-2a (*n* = 15; 20.8%; Fig. 3A). The pilus island antigens in the 2 isolates from children were not analyzed. In the adult cohort, PI-1 + PI-2a was the most abundant (*n* = 50;

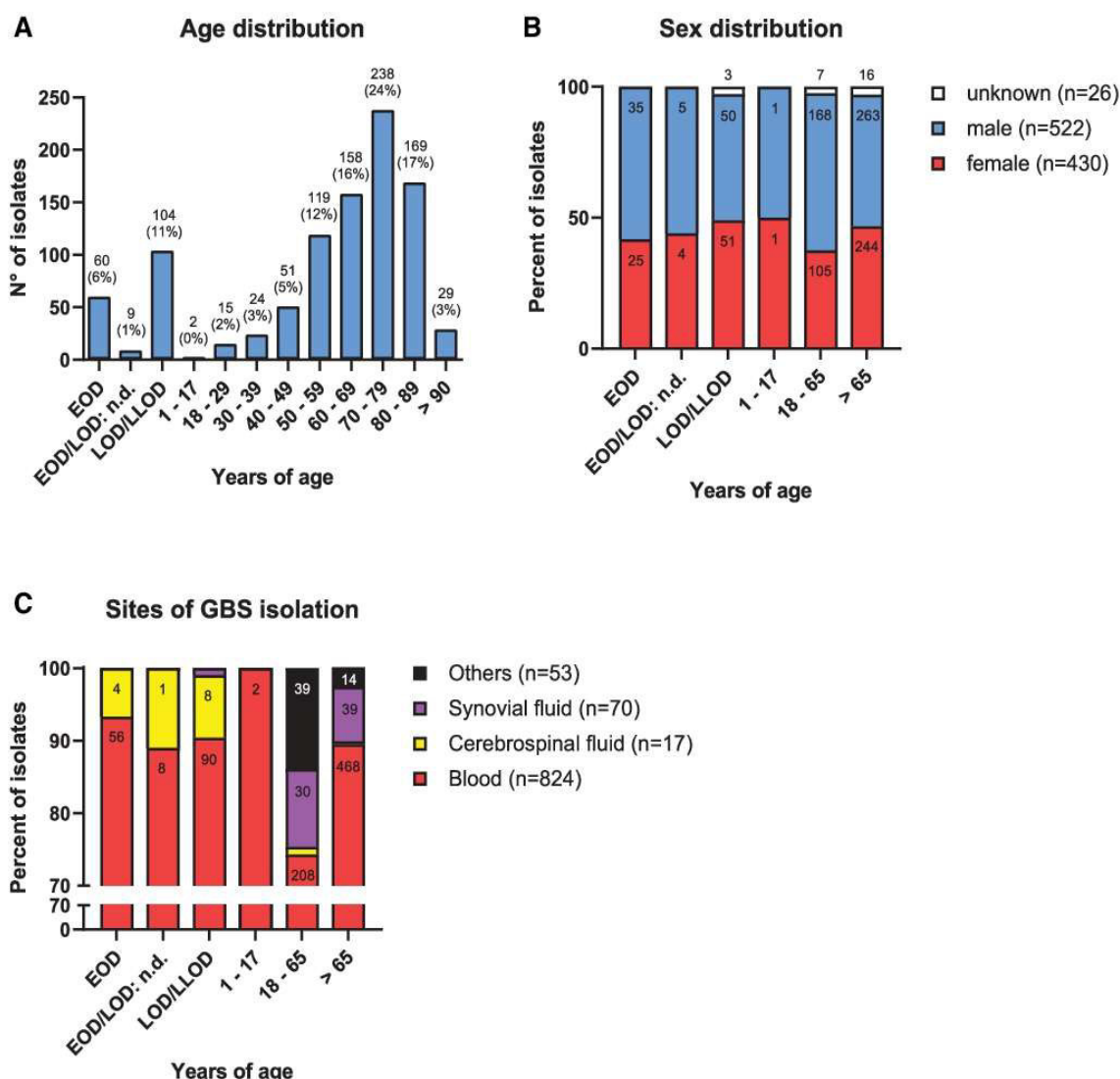


FIGURE 1. Patient and sample characteristics. A: Distribution of patient age at onset of invasive GBS disease, total numbers, and percentages in parentheses are indicated. B: Relative distribution of patient sex in different age groups, with absolute numbers indicated in the graph. C: Relative frequency of isolation sites of GBS in different age groups. "Others" comprises in order of frequency: intraoperative swaps, ascites, abscess fluid, bone biopsy, pleural fluid, and lymphocele fluid. In addition, absolute numbers are indicated inside the bars. EOD/LOD: n.d. indicates isolates from infant patients where the exact age of disease onset is not determinable, and thus the classification as EOD or LOD not possible. [full color online](#)

49.5%), especially among the elderly, followed by PI-1+PI-2b (n=12; 11.9%) and PI-2a (n=20; 19.8%; Fig. 3B). Correlating pilus islands with capsule polysaccharide serotypes revealed a statistically significant association between serotype Ia and pilus antigen 2a [relative risk (RR), 6.60; CI 4.06–10.80], between serotype Ib and PI-1+PI-2a (RR 3.49, CI: 1.44–8.49), between serotype II and PI-1+PI-2a (RR 2.99, CI: 1.29–6.94), between serotype V and PI-1+PI-2a (RR 2.78, CI: 1.44–5.41) as well as between serotype III and pilus antigen PI-1+PI-2b (RR 3.94, CI 2.67–5.82).

All analyzed isolates were sensitive against ampicillin, cefotaxime, linezolid, and vancomycin, as determined by the agar disk

diffusion test. Using an E test, all isolates tested sensitive against benzylpenicillin, cefotaxime, and gentamicin. In addition, all 978 isolates were tested for erythromycin and clindamycin resistance. Of these, 219 isolates (22.4%) were classified as erythromycin resistant after E-test confirmation, while 3 isolates were classified intermediate resistant. An additional 138 isolates (14.1%) tested clindamycin resistant with E-test confirmation. Erythromycin-resistant isolates were tested with a double-disk test for the presence of an inducible MLS_B-phenotype, that is, the induction of clindamycin resistance by erythromycin exposure. The test revealed 46 isolates (21.2%) with an inducible MLS_B-phenotype,

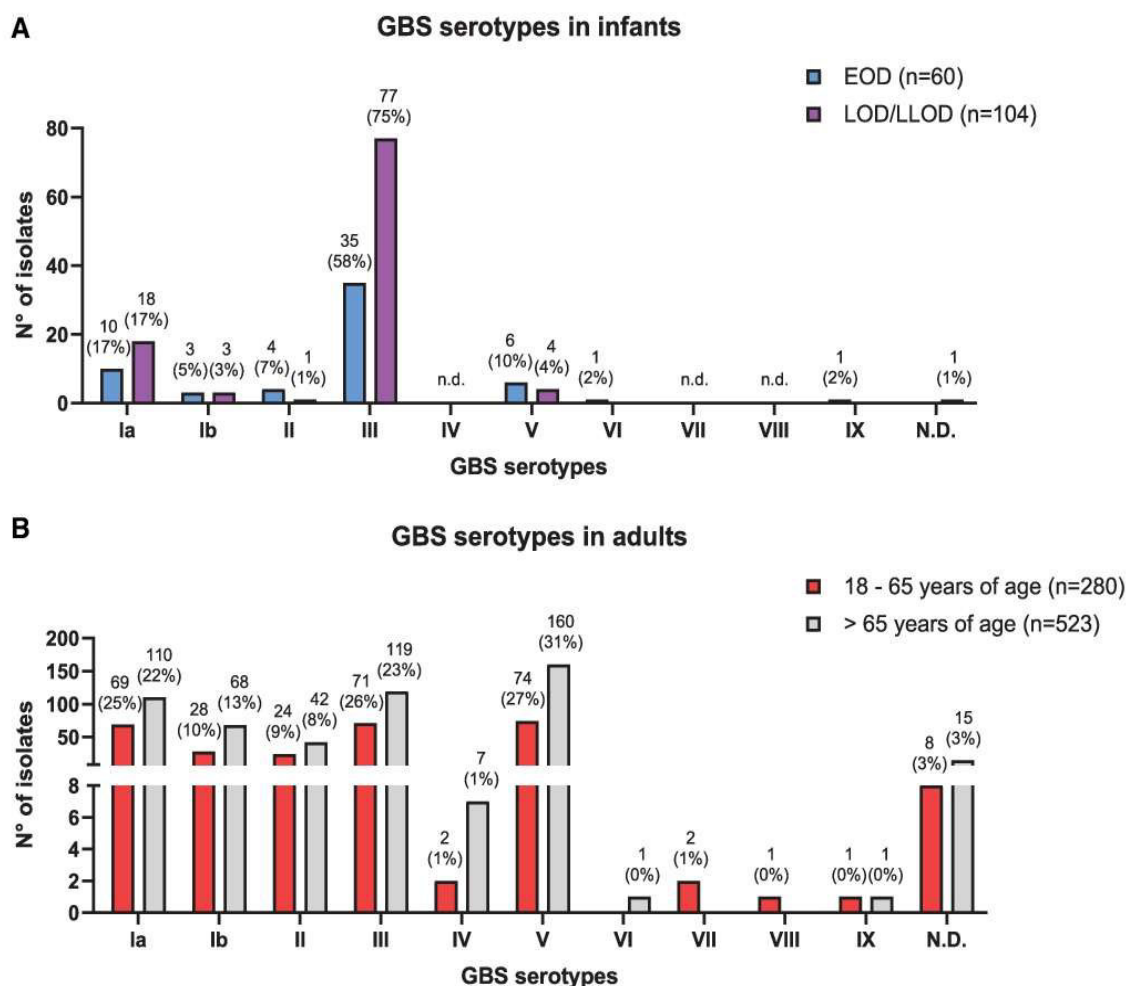


FIGURE 2. Relative prevalence of capsule polysaccharide serotypes. A: Capsule polysaccharide serotype in isolates from EOD and LOD/LLOD patients. In addition, the 9 isolates from infants with unknown age at disease onset are 2× serotype 1a, 6× serotype 3, 1× serotype 1b (not shown in this figure). B: Capsule polysaccharide serotype in isolates from adult and elderly patients. Capsule polysaccharide serotype was determined by latex agglutination and genotyping. Overall, the serotype of 97.5% of all isolates was determined. The capsule polysaccharide serotype of the 2 isolates from patients 1–17 years of age where 1a and V (not shown in this figure). Total numbers and percentages in parentheses are indicated in A and B. Isolates that could not be assigned to a specific serotype are indicated as N.D. LLOD indicates late-late-onset disease; LOD, late-onset disease; n.d., not detected; N.D., not determinable.

full color
online

whereas 137 isolates (63.1%) were double-resistant and therefore classified as constitutive MLS_B -phenotype. Further, 36 isolates (16.6%) were erythromycin-resistant, clindamycin-sensitive, and had a negative double-disk test result. Labeled M-type, this resistance pattern is conveyed by the *mefA* gene.²³ Erythromycin-resistance is slightly more frequent in isolates from EOD patients than late-onset disease (LOD) patients, although this difference is not significant (RR 1.57, CI: 1.01–2.30; Fig. 4). Correlating resistance to capsule polysaccharide serotype showed a significant association between serotype V and both erythromycin (53.0% of all resistant isolates, RR 3.12, CI: 2.55–3.80) and clindamycin (66.7% of all resistant isolates, RR 3.66, CI: 3.03–4.39) resistance. This observation remained statistically significant in all age-related subgroup analyses.

DISCUSSION

This study reports on microbiologic characteristics of 978 invasive GBS isolates, including both infant and adult patients. By providing a direct comparison of characteristics of infant and adult isolates, it confirms distinct distribution patterns of serotype and pilus antigen in these 2 age groups.

Elderly patients increasingly have become recognized as an at-risk population. Incidence of invasive GBS infections in adults over 60 years old has doubled during the time period 2000–2010 in a range of Western countries.⁶ Risk factors for adult invasive GBS infections are well-known and include liver cirrhosis, diabetes mellitus, or bladder dysfunction.²⁴

For infants and adult invasive GBS disease, the vaccine development seems promising for decreasing the disease burden

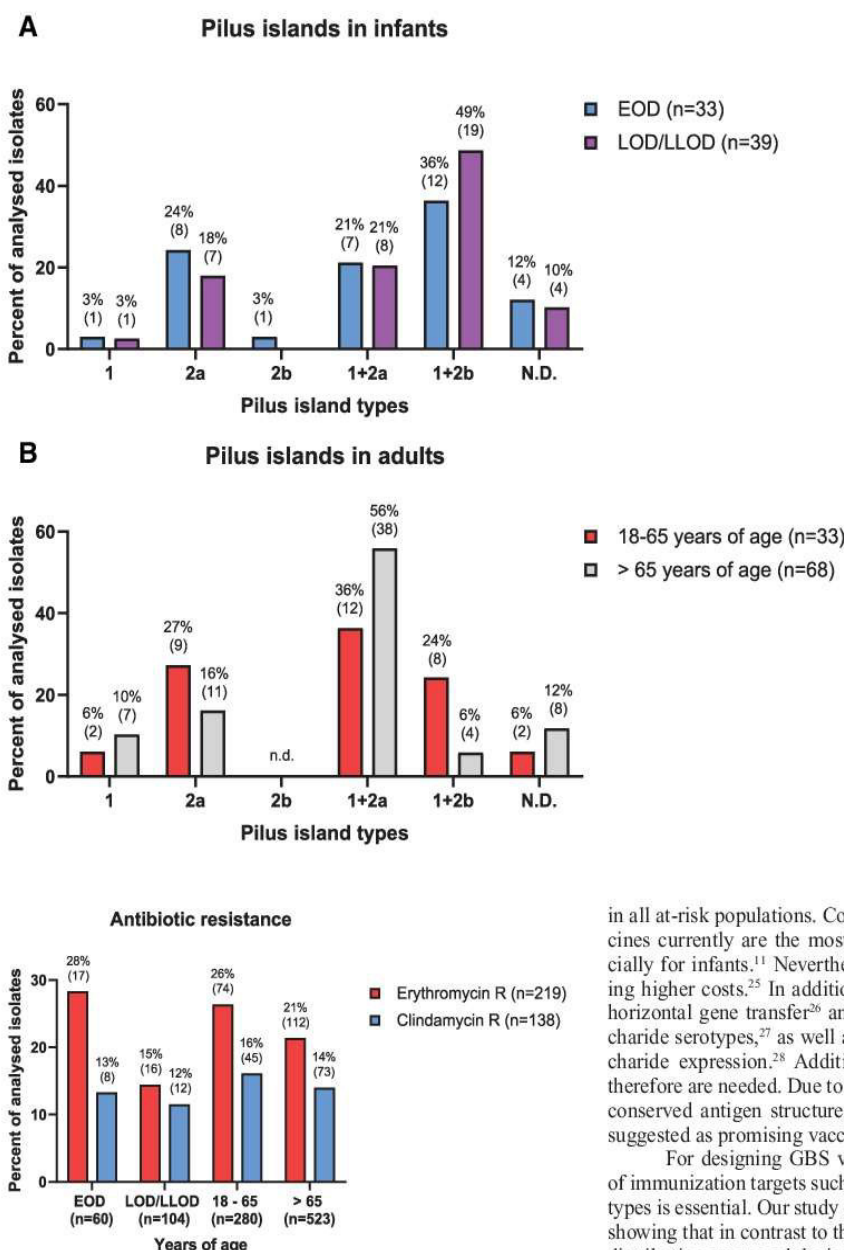


FIGURE 4. Antibiotic resistance stratified according to patient age at disease onset. Resistance against erythromycin and clindamycin was determined by agar diffusion test and confirmed, in case of resistance, by E test. Percentages and total numbers in parentheses are indicated. Three isolates from adult patients were classified as intermediate against erythromycin; they are included within the “sensitive” population in the above graph. Differences in resistance frequencies between the age groups are not significant, as determined by Fisher’s exact test. Percentages and total numbers in parentheses are indicated. [full color online](#)

FIGURE 3. Pilus island distribution stratified according to patient age at disease onset. A: Pilus island distribution in isolates from patients with EOD and LOD/LLOD. One isolate from an infant with unknown age at disease onset is included in the LOD population (pilus type 2a). B: pilus island distribution in isolates from adult and elderly patients. Overall, 18 of 173 analyzed isolates (10.4%) showed either no or an inconclusive result (eg, both type 2a and 2b) and were marked as N.D. N.D. in the above graph. The 2 isolates from children were not analyzed regarding pilus island distribution. Percentages and total numbers in parentheses are indicated in (A) and (B). LLOD indicates late-late-onset disease; LOD, late-onset disease; N.D., not determinable. [full color online](#)

in all at-risk populations. Conjugated capsular polysaccharide vaccines currently are the most promising vaccine candidates, especially for infants.¹¹ Nevertheless, several limitations exist, including higher costs.²⁵ In addition, GBS is able to switch serotype by horizontal gene transfer²⁶ and may have several capsular polysaccharide serotypes,²⁷ as well as different levels of capsular polysaccharide expression.²⁸ Additional alternative preventive strategies therefore are needed. Due to their ubiquitous expression and highly conserved antigen structure, pilus antigens previously have been suggested as promising vaccine candidates.¹³

For designing GBS vaccines, knowledge of the prevalence of immunization targets such as capsular serotypes and pilus island types is essential. Our study confirmed previously published results showing that in contrast to the distribution among infants, serotype distribution among adults is spread evenly among the 5 most abundant serotypes (ie, Ia, Ib, II, III, and V). In our study, serotype V was the most frequent serotype in the adult population. This also has been noted in the United States²⁹ and in Sweden,³⁰ although in Iceland³¹ and Portugal,³² serotype Ia was most common. Serotype III predominance is a key feature of EOD and LOD/late-late-onset disease.^{15,33} It also reflects the previously described increased capacity for invasiveness of this serotype.³⁴ The predominance of serotype III most likely encompasses clonal complex 17, a GBS cluster with several genetic modifications that lead to enhanced virulence in EOD and, to a lesser degree, LOD pathogenesis.³⁵ Serotype V tends to be associated with clonal complex I.³⁶ Although 10 isolates had divergent results in the serotype and genotype analysis,

this finding either may be attributed to technical limitations or to multiple serotype carriage.²⁷

Apart from the occurrence of pilus island type 1 alone, without the combination with pilus island type 2a or 2b, the distribution of pilus types in our study was similar to GBS collections from the United States and Italy,¹³ as well as from Spain and Portugal,³⁷ although these studies included colonizing isolates. Interestingly, the distribution of pilus antigens differed between infant and adult isolates. This could hint at different roles for the pathogenicity or immunogenicity in the different age groups. Furthermore, both the different serotypes and the different pilus antigen distribution need to be taken into account when designing a vaccine with potential applications in different age groups.

In a different study, we have compared the pilus typing results of 72 infant isolates from this study with pilus typing results conducted by a newly developed DNA microarray assay in a larger collection of infant isolates.³⁸ For 60 of those infant isolates, microarray data were available. The 8 infant isolates that could not be assigned to a pilus type by PCR were able to be identified by microarray as harboring pilus islands 1 and 2a (4 isolates), pilus island 2a, or pilus islands 1 and 2b (2 isolates each, respectively). Interestingly, the 2 isolates classified by PCR as being pilus island type 1 alone showed a clear signal in the microarray for a combination of pilus island type 1 with type 2a or 2b. Three other isolates showed discordant pilus island typing results for the PCR and the microarray assay. This may be due to different target sequences within the gene.

The occurrence of pilus island type 1 alone rarely has been reported in the literature. This leads us to the conclusion that the distribution of pilus island types mainly consists of just 3 combinations: type 2a, type 1 combined with 2a, and type 1 combined with 2b. This makes it an appealing candidate for vaccine design, as a limited number of epitopes would be able to cover the vast majority of strains. In addition to pilus antigens, other nonpilus, cell wall-anchored proteins have been proposed as potential vaccine epitopes.³⁹ This has been based upon the observation that antibody levels against other surface markers inversely correlate with colonization likelihood during pregnancy.⁴⁰

In our study cohort, resistance rates against erythromycin and clindamycin were similar between infant and adult invasive strains. However, analogous to trends in other countries,³² in our study cohort of infant invasive isolates, resistance rates against both antibiotics have doubled in comparison to a similar national cohort from 2001 to 2003.¹⁹

In summary, our study assessed the prevalence of capsular polysaccharide type and pilus antigen type, as well as antibiotic resistance patterns, of a large, nationwide collection of both infant and adult invasive GBS isolates during a 2-year period in Germany. This information is critical for the purpose of designing potential vaccines.

Limitations of our study include the following: First, capsular polysaccharide typing primarily was derived from serotyping and only a subset of isolates was genotyped. However, our rate of accordance between serotyping and genotyping was similar to international standards.²⁰ Second, due to limited financial resources, pilus island typing was done only for a subset of isolates. By predefining the isolates to be typed, we generated a representative sample selection. Corresponding well to previously published pilus island distributions, our results confirmed this representativeness. Third, 10.4% of GBS isolates were not able to be assigned to a pilus type by PCR. Therefore, we tested all infant invasive GBS isolates using a newly developed GBS microarray method.³⁸ Within this subset, 99% of strains could be typed by pilus antigen, and the overall ratio of pilus island typing was highly concordant with our PCR typing results, as described above. Of note, our study did not analyze pilus islands expression levels. To validly identify vaccine

targets, doing so would be essential because expression levels can differ significantly. Finally, we cannot fully exclude the possibility that contamination occurred during sampling. If this occurred, a strain could have been falsely classified as invasive. This may have particular relevance for intraoperative swabs.

To date, no satisfactory control of severe GBS disease has been achieved in all 3 of the vulnerable populations identified—that is, newborns/infants, women near the time of child delivery, and elderly persons who have underlying medical conditions. Therefore, follow-up efforts are needed, including but not limited to the development of vaccines against promising targets such as the pilus islands.

ACKNOWLEDGMENTS

Florens Lohrmann is a recipient of an IMM-PACT stipend (DFG 413517907) and member of the Spemann Graduate School for Biology and Medicine. This work was partly supported by the Ministry for Science, Research and Arts of the State of Baden-Wuerttemberg. We thank Natalie Diffloth for proofreading the manuscript.

REFERENCES

- Seale AC, Bianchi-Jassir F, Russell NJ, et al. Estimates of the burden of group B streptococcal disease worldwide for pregnant women, stillbirths, and children. *Clin Infect Dis*. 2017;65(suppl_2):S200–S219.
- Schwartz B, Schuchat A, Oxtoby MJ, et al. Invasive group B streptococcal disease in adults. A population-based study in metropolitan Atlanta. *JAMA*. 1991;266:1112–1114.
- Palazzi DL, Rench MA, Edwards MS, et al. Use of type V group B streptococcal conjugate vaccine in adults 65–85 years old. *J Infect Dis*. 2004;190:558–564.
- Skoff TH, Farley MM, Petit S, et al. Increasing burden of invasive group B streptococcal disease in nonpregnant adults, 1990–2007. *Clin Infect Dis*. 2009;49:85–92.
- McLaughlin JM, Peyrani P, Furmanek S, et al. Burden of adults hospitalized with group B streptococcal infection. *J Infect Dis*. 2020;jiaa110. [Online ahead of print]
- Ballard MS, Schönheyder HC, Knudsen JD, et al; International Bacteremia Surveillance Collaborative. The changing epidemiology of group B streptococcus bloodstream infection: a multi-national population-based assessment. *Infect Dis (Lond)*. 2016;48:386–391.
- Wicker E, Lander F, Weidemann F, et al. Group B streptococci: declining incidence in infants in Germany. *Pediatr Infect Dis J*. 2019;38:516–519.
- Madrid L, Seale AC, Kohli-Lynch M, et al; Infant GBS Disease Investigator Group. Infant group B streptococcal disease incidence and serotypes worldwide: systematic review and meta-analyses. *Clin Infect Dis*. 2017;65(suppl_2):S160–S172.
- Kovavisarach E, Jarupisamlert P, Kanjanaharuetai S. The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting intrapartum group B streptococcal colonization. *J Med Assoc Thai*. 2008;91:1796–1800.
- Stoll BJ, Hansen NI, Sánchez PJ, et al; Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. Early onset neonatal sepsis: the burden of group B streptococcal and *E. coli* disease continues. *Pediatrics*. 2011;127:817–826.
- Heath PT. Status of vaccine research and development of vaccines for GBS. *Vaccine*. 2016;34:2876–2879.
- Baker CJ, Rench MA, McInnes P. Immunization of pregnant women with group B streptococcal type III capsular polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccine. *Vaccine*. 2003;21:3468–3472.
- Margarit I, Rinaudo CD, Galeotti CL, et al. Preventing bacterial infections with pilus-based vaccines: the group B streptococcus paradigm. *J Infect Dis*. 2009;199:108–115.
- Maione D, Margarit I, Rinaudo CD, et al. Identification of a universal group B streptococcus vaccine by multiple genome screen. *Science*. 2005;309:148–150.
- Fabbrini M, Rigat F, Rinaudo CD, et al. The protective value of maternal group B streptococcus antibodies: quantitative and functional analysis of naturally acquired responses to capsular polysaccharides and pilus proteins in European maternal sera. *Clin Infect Dis*. 2016;63:746–753.

16. Jiang S, Park SE, Yadav P, et al. Regulation and function of pilus island 1 in group B streptococcus. *J Bacteriol*. 2012;194:2479–2490.
17. Lazzarin M, Mu R, Fabbrini M, et al. Contribution of pilus type 2b to invasive disease caused by a *Streptococcus agalactiae* ST-17 strain. *BMC Microbiol*. 2017;17:148.
18. Sheen TR, Jimenez A, Wang NY, et al. Serine-rich repeat proteins and pili promote *Streptococcus agalactiae* colonization of the vaginal tract. *J Bacteriol*. 2011;193:6834–6842.
19. Fluegge K, Supper S, Siedler A, et al. Antibiotic susceptibility in neonatal invasive isolates of *Streptococcus agalactiae* in a 2-year nationwide surveillance study in Germany. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:4444–4446.
20. Afshar B, Broughton K, Creti R, et al; Members of the DEVANI Study Group. International external quality assurance for laboratory identification and typing of *Streptococcus agalactiae* (Group B streptococci). *J Clin Microbiol*. 2011;49:1475–1482.
21. Slotved HC, Elliott J, Thompson T, et al. Latex assay for serotyping of group B streptococcus isolates. *J Clin Microbiol*. 2003;41:4445–4447.
22. Imperi M, Pataracchia M, Alfarone G, et al. A multiplex PCR assay for the direct identification of the capsular type (Ia to IX) of *Streptococcus agalactiae*. *J Microbiol Methods*. 2010;80:212–214.
23. Clancy J, Petitpas J, Dib-Hajj F, et al. Molecular cloning and functional analysis of a novel macrolide-resistance determinant, *mefA*, from *Streptococcus pyogenes*. *Mol Microbiol*. 1996;22:867–879.
24. Jackson LA, Hilsdon R, Farley MM, et al. Risk factors for group B streptococcal disease in adults. *Ann Intern Med*. 1995;123:415–420.
25. Chen C, Cervero Licerias F, Flasche S, et al. Effect and cost-effectiveness of pneumococcal conjugate vaccination: a global modelling analysis. *Lancet Glob Health*. 2019;7:e58–e67.
26. Martins ER, Melo-Cristino J, Ramirez M. Evidence for rare capsular switching in *Streptococcus agalactiae*. *J Bacteriol*. 2010;192:1361–1369.
27. Ramaswamy SV, Ferrieri P, Flores AE, et al. Molecular characterization of nontypeable group B streptococcus. *J Clin Microbiol*. 2006;44:2398–2403.
28. Sendi P, Johansson L, Dahesh S, et al. Bacterial phenotype variants in group B streptococcal toxic shock syndrome. *Emerg Infect Dis*. 2009;15:223–232.
29. Kothari NJ, Morin CA, Glennen A, et al. Invasive group B streptococcal disease in the elderly, Minnesota, USA, 2003–2007. *Emerg Infect Dis*. 2009;15:1279–1281.
30. Gudjónsdóttir MJ, Hentz E, Berg S, et al. Serotypes of group B streptococci in western Sweden and comparison with serotypes in two previous studies starting from 1988. *BMC Infect Dis*. 2015;15:507.
31. Björnsdóttir ES, Martins ER, Erlendsdóttir H, et al. Changing epidemiology of group B streptococcal infections among adults in Iceland: 1975–2014. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22:379.e9–379.e16.
32. Lopes E, Fernandes T, Machado MP, et al; The Portuguese Group For The Study Of Streptococcal Infections. Increasing macrolide resistance among *Streptococcus agalactiae* causing invasive disease in non-pregnant adults was driven by a single capsular-transformed lineage, Portugal, 2009 to 2015. *Euro Surveill*. 2018;23:1700473.
33. Edmond KM, Kortsalioudaki C, Scott S, et al. Group B streptococcal disease in infants aged younger than 3 months: systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2012;379:547–556.
34. Ip M, Ang I, Fung K, et al. Hypervirulent clone of group B streptococcus serotype III sequence type 283, Hong Kong, 1993–2012. *Emerg Infect Dis*. 2016;22:1800–1803.
35. Jones N, Oliver KA, Barry J, et al; Oxford Group B Streptococcus Consortium. Enhanced invasiveness of bovine-derived neonatal sequence type 17 group B streptococcus is independent of capsular serotype. *Clin Infect Dis*. 2006;42:915–924.
36. Luan SL, Granlund M, Sellin M, et al. Multilocus sequence typing of Swedish invasive group B streptococcus isolates indicates a neonatally associated genetic lineage and capsule switching. *J Clin Microbiol*. 2005;43:3727–3733.
37. Martins ER, Andreu A, Melo-Cristino J, et al. Distribution of pilus islands in *Streptococcus agalactiae* that cause human infections: insights into evolution and implication for vaccine development. *Clin Vaccine Immunol*. 2013;20:313–316.
38. Zürn K, Lander F, Hufnagel M, et al. Microarray analysis of group B streptococci causing invasive neonatal early- and late-onset infection. *Pediatr Infect Dis J*. 2020;39:449–453.
39. Pietrocola G, Arciola CR, Rindi S, et al. *Streptococcus agalactiae* non-pilus, cell wall-anchored proteins: involvement in colonization and pathogenesis and potential as vaccine candidates. *Front Immunol*. 2018;9:602.
40. Dzanibe S, Kwatra G, Adrian PV, et al. Association between antibodies against group B streptococcus surface proteins and recto-vaginal colonisation during pregnancy. *Sci Rep*. 2017;7:16454.

Antibiotic susceptibility profiles of neonatal invasive isolates of *Escherichia coli* from a 2-year nationwide surveillance study in Germany, 2009–2010

M. Heideking · F. Lander · M. Hufnagel · Y. Pfeifer ·
E. Wicker · G. Krause · R. Berner

Received: 20 January 2013 / Accepted: 20 March 2013 / Published online: 5 April 2013
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013

Abstract A nationwide 2-year surveillance study on invasive neonatal *Escherichia coli* infections in Germany was conducted. A total of 158 isolates were tested for antibiotic susceptibility. The empirical treatment regimen of ampicillin plus gentamicin for neonatal sepsis appears to remain effective, but emerging resistance needs to be closely monitored.

Background

Escherichia coli is the leading Gram-negative organism, causing neonatal sepsis and meningitis with high rates of morbidity and mortality, despite advances in neonatal intensive care [1, 2]. In *E. coli*, attention concerning antibiotic susceptibility has mainly been focused on the development of ampicillin resistance in early-onset sepsis (EOS) of pre-term infants [3, 4], whereas few studies have systematically

examined susceptibility to other classes of antibiotics in neonatal sepsis. We present the first nationwide surveillance data on the antibiotic susceptibility of neonatal invasive *E. coli* strains isolated in Germany.

Methods

Active surveillance for invasive *E. coli* infections in all neonates up to the age of 3 months was performed from January 2009 through December 2010. Monthly questionnaires were sent out by the Robert Koch Institute (RKI), Berlin, Germany, to all microbiological laboratories in Germany serving neonatal wards and willing to participate in the study.

Strains were considered to be definitely invasive when isolated from blood or cerebrospinal fluid (CSF) culture or from other sterile compartments. *E. coli* isolates from non-sterile material in a clinically septic infant were considered to be suspected invasive. The study design targeted laboratories directly and personal data protection did not allow for retrieval of the patients' age at acquisition of the isolate nor any additional clinical information.

Antimicrobial susceptibility to piperacillin/tazobactam, cefuroxime, meropenem, ciprofloxacin, cotrimoxazole, tetracycline, and tigecycline was assessed using disk diffusion tests (bioMérieux, Nuertingen, Germany). The minimum inhibitory concentration (MIC) of ampicillin, piperacillin, cefotaxime, and gentamicin was determined using Etest strips (bioMérieux, Nuertingen, Germany). Susceptibility was defined as "susceptible", "intermediately susceptible", or "resistant" according to the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) guidelines

M. Heideking · M. Hufnagel
Center for Pediatrics and Adolescent Medicine,
University Medical Center Freiburg, Freiburg, Germany

Y. Pfeifer
Nosocomial Infections, Robert Koch Institute,
Wernigerode, Germany

E. Wicker · G. Krause
Infectious Disease Epidemiology, Robert Koch Institute,
Berlin, Germany

F. Lander · R. Berner (✉)
Center for Pediatrics and Adolescent Medicine,
University Medical Center Dresden, Fetscherstr. 74,
01307 Dresden, Germany
e-mail: reinhard.berner@uniklinikum-dresden.de

[5]. Isolates resistant to cefotaxime were further evaluated by the double disk diffusion test for phenotypical confirmation of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) production. Relevant ESBL genes (*bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}) were amplified by multiplex polymerase chain reaction (PCR) and sequenced [6, 7]. Strain typing was performed for ESBL-positive *E. coli* using pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) with *Xba*I-digested whole genomic DNA.

Results

A total of 1,230 laboratories were identified as target laboratories. Of these, 128 (10.4 %) laboratories responded to serving neonatal wards and performing antibiotic susceptibility testing on neonatal *E. coli* isolates. During the 2-year study period, 93 laboratories continuously provided data and 18 provided data only for a limited period ranging from 8 to 20 months. The capture areas of the laboratories include all 16 federal states of Germany. A total of 180 *E. coli* strains were collected, of which 115 (63.9 %) were identified as definitely invasive and a further 43 (23.9 %) strains were considered to be suspected invasive pathogens, as defined above. The remaining 22 (12.2 %) strains were either identified as non-invasive or could not be evaluated and were, thus, excluded from the analysis. Of the 115 confirmed invasive strains, 95 (82.6 %) were isolated from blood, 16 (13.9 %) from CSF, 2 (1.7 %) from pleural effusion, and one from an intra-abdominal abscess. No significant differences in antibiotic susceptibility were found between invasive and suspected invasive isolates.

The resistance rates are shown in Table 1. The MIC of ampicillin ranged from 0.5 to >256 μ g/ml, with an MIC₅₀ of 3 μ g/ml and an MIC₉₀ of >256 μ g/ml (Table 2). The MIC of

Table 2 Minimal inhibitory concentrations (MICs) of selected antibiotics for 158 neonatal invasive *E. coli* strains

Antibiotic	MIC ₅₀ (μ g/ml)	MIC ₉₀ (μ g/ml)	Range (μ g/ml)
Ampicillin	3	>256	0.5 to >256
Piperacillin	1.5	64	0.38 to >256
Cefotaxime	0.047	0.094	0.016–128
Gentamicin	0.5	1	0.19–96

piperacillin ranged from 0.038 to >256 μ g/ml, with an MIC₅₀ of 1.5 μ g/ml and an MIC₉₀ of 64 μ g/ml. Six isolates (3.8 %) were resistant to cefotaxime, with MIC ranging from 0.016 to 128 μ g/ml, an MIC₅₀ of 0.047 μ g/ml and an MIC₉₀ of 0.094 μ g/ml. Among these six isolates, two harbored the ESBL gene *bla*_{TEM-52} and the remaining four harbored *bla*_{CTX-M-1}, *bla*_{CTX-M-3}, *bla*_{CTX-M-14}, and *bla*_{CTX-M-15}, respectively. Macrorestriction patterns (PFGE analysis) of the ESBL strains showed no genetic relationship except for the two TEM-52-producing *E. coli* that were isolated from two different patients in two different hospitals in the same geographic area (Fig. 1).

Gentamicin MICs ranged from 0.19 to 96 μ g/ml, with an MIC₅₀ of 0.5 μ g/ml and an MIC₉₀ of 1.0 μ g/ml. All 158 isolates were uniformly susceptible to meropenem, piperacillin/tazobactam, and tigecycline.

Discussion

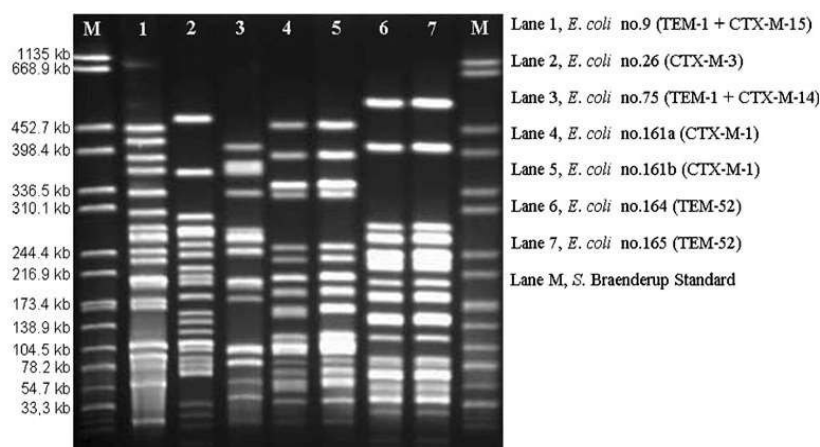
We present the first national surveillance study on antibiotic susceptibility in neonatal invasive *E. coli* strains conducted in Germany to date. Empirical treatment regimens for neonatal sepsis combine ampicillin with either an aminoglycoside or a cephalosporin of the cefotaxime group. The proportion of ampicillin resistance in this study was comparable to the published data of resistance rates of 40–65 % in *E. coli* EOS [3, 4], whereas susceptibility to gentamicin and cefotaxime was shown to remain high throughout Germany. However, 3.8 % of the strains proved to be resistant to the combination of ampicillin and gentamicin, likewise, 3.8 % were resistant to the combination of ampicillin and cefotaxime. The emergence of ESBL-producing strains needs to be closely monitored in the future, considering its potential impact on the choice of empirical therapy. Outbreaks of ESBL-producing *E. coli* strains in neonatal intensive care units did not occur during the study period, but have recently been reported from elsewhere in Europe [8, 9].

Few studies presenting nationwide susceptibility profiles of neonatal invasive *E. coli* in Europe have been published. A current publication from England showed a slightly higher rate of cephalosporin resistance of 5 %

Table 1 Antibiotic susceptibility profiles of 158 neonatal invasive *Escherichia coli* strains isolated in a national surveillance study in Germany between January 2009 and December 2010

Antibiotic	Susceptible (%)	Intermediately susceptible (%)	Resistant (%)
Ampicillin	87 (55.1)	–	71 (44.9)
Piperacillin	89 (56.3)	25 (15.8)	44 (27.9)
Tazobactam	158 (100)	–	–
Cefuroxime	151 (95.6)	–	7 (4.4)
Cefotaxime	152 (96.2)	–	6 (3.8)
Meropenem	158 (100)	–	–
Gentamicin	151 (95.6)	–	7 (4.4)
Cotrimoxazole	127 (80.4)	1 (0.6)	30 (19)
Ciprofloxacin	151 (95.6)	–	7 (4.4)
Tetracycline	104 (65.8)	6 (3.8)	48 (30.4)
Tigecycline	158 (100)	–	–

Fig. 1 Macrorestriction patterns [*Xba*I pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)] of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolated from six neonates. *E. coli* strains 4 and 5 were isolated from the same patient. Isolates 6 and 7 with identical patterns were isolated from separate patients in different hospitals in the same geographic region



in late-onset sepsis (LOS) *E. coli* strains [10]. The same study showed that 93 % of LOS *E. coli* strains remained susceptible to a combination of amoxicillin and gentamicin. In contrast, an English multicenter surveillance study found resistance rates to amoxicillin plus cefotaxime of approximately 16 % among *E. coli* LOS strains [11].

We recognize limitations to our study. Although we initiated a comprehensive recruitment of laboratories, we cannot claim to have a full coverage of all laboratories in question and we cannot assure full representativeness of the participating sample. Yet, we have no indication that our data are subject to a systematic recruiting bias. Since the design of this study targeted laboratories directly, clinical information could not be retrieved, making it impossible to differentiate susceptibility profiles between EOS and LOS.

In summary, susceptibility to aminoglycosides and cefotaxime among *E. coli* isolates causing neonatal sepsis in Germany remains high. Empirical therapy combining ampicillin with either an aminoglycoside or a cephalosporin of the cefotaxime group can, thus, still be considered effective. The emergence of ESBL-producing *E. coli* strains among the neonatal population should be closely monitored through future surveillance studies.

Acknowledgments We extend special thanks to Sybille Müller-Bertling and Christine Günther for performing the genotypical analyses of the ESBL-producing *E. coli* isolates.

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Funding This work was supported by the Walter-Marget-Foundation.

References

1. Gaschignard J, Levy C, Romain O et al (2011) Neonatal bacterial meningitis: 444 cases in 7 years. *Pediatr Infect Dis J* 30:212–217
2. Stoll BJ, Hansen NI, Sánchez PJ et al (2011) Early onset neonatal sepsis: the burden of group B Streptococcal and *E. coli* disease continues. *Pediatrics* 127:817–826
3. Alarcon A, Peña P, Salas S, Sancha M, Omeñaca F (2004) Neonatal early onset *Escherichia coli* sepsis: trends in incidence and antimicrobial resistance in the era of intrapartum antimicrobial prophylaxis. *Pediatr Infect Dis J* 23:295–299
4. Bizzarro MJ, Dembry LM, Baltimore RS, Gallagher PG (2008) Changing patterns in neonatal *Escherichia coli* sepsis and ampicillin resistance in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *Pediatrics* 121:689–696
5. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) (2012) Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Available online at: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints
6. Gröbner S, Linke D, Schütz W et al (2009) Emergence of carbapenem-non-susceptible extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates at the university hospital of Tübingen, Germany. *J Med Microbiol* 58:912–922
7. Pfeifer Y, Matten J, Rabsch W (2009) *Salmonella enterica* serovar Typhi with CTX-M beta-lactamase, Germany. *Emerg Infect Dis* 15:1533–1535
8. Moissenet D, Salauze B, Clermont O et al (2010) Meningitis caused by *Escherichia coli* producing TEM-52 extended-spectrum beta-lactamase within an extensive outbreak in a neonatal ward: epidemiological investigation and characterization of the strain. *J Clin Microbiol* 48:2459–2463
9. Tschudin-Sutter S, Frei R, Battegay M, Hoesli I, Widmer AF (2010) Extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in neonatal care unit. *Emerg Infect Dis* 16:1758–1760
10. Muller-Pebody B, Johnson AP, Heath PT, Gilbert RE, Henderson KL, Sharland M; iCAP Group (Improving Antibiotic Prescribing in Primary Care) (2011) Empirical treatment of neonatal sepsis: are the current guidelines adequate? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 96:F4–F8
11. Vergnano S, Menson E, Kennea N et al (2011) Neonatal infections in England: the NeonIN surveillance network. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 96:F9–F14

11 Erklärung nach § 2 Abs. 2 Nr. 7 und 8 der Promotionsordnung

Hiermit erkläre ich, dass ich die der Medizinischen Hochschule Hannover zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

Group B Streptococci Infections
Declining Incidence in Infants in Germany

aus der

Abteilung für Epidemiologie
des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung, Braunschweig

unter der Betreuung von

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Gérard Krause

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel verwendet habe.

Die Gelegenheit zum vorliegenden Promotionsverfahren ist mir nicht kommerziell vermittelt worden. Insbesondere habe ich keine Organisation eingeschaltet, die gegen Entgelt Betreuerinnen und Betreuer für die Anfertigung von Dissertationen sucht oder die mir obliegenden Pflichten hinsichtlich der Prüfungsleistungen für mich ganz oder teilweise erledigt.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Weiterhin versichere ich, dass ich den beantragten Titel bisher noch nicht erworben habe.

Ergebnisse der Dissertation wurden in dem folgenden Publikationsorgan veröffentlicht: „The Pediatric Infectious Disease Journal“ veröffentlicht.

Ort, Datum

Unterschrift

12 Danksagung

Diese Arbeit wäre nicht möglich gewesen ohne die gute Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. med. Reinhard Berner, Herrn Prof. Dr. med. Markus Hufnagel, Herrn Fabian Lander, Herrn Dr. rer. nat. Felix Weidemann und dem Laborteam des Universitätsklinikums Freiburg.

Ein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Gérard Krause dafür, dass er mich immer unterstützt und stets zu mir gehalten hat.