مجله دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران (پیاورد سلامت) دوره ۵ شماره ۲ تابستان ۱۳۹۰، ۶۰-۵۱

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 14:02 IRDT on Saturday July 22nd 2017

بررسی مولکولار اپیدمیولوژی استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه B کلونیزه شده در دستگاه تناسلی زنان باردار

دکتر محمد کاظم شریفی یزدی[۱]، روناک بختیاری[۲]، گلناز مبصری[۲]
دکتر محمد مهدی سلطان دلال[۳]، دکتر محمد باقر خلیلی[۴]

چکیده

زمینه و هدف: استرپتوکوک گروه B لانسفیلد از مهمترین عوامل ایجاد بیماری و مرگ و میر نوزادان و تب‌های بعد از زایمان مادران محسوب می‌شود. عفونت می‌تواند از مادر آلوده در حین زایمان به نوزاد منتقل شود. بنابراین یک روش سریع برای شناسایی ارگانیسم در زنان باردار در هنگام زایمان مورد نیاز است. هدف از این مطالعه بررسی مولکولار اپیدمیولوژی استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه B کلونیزه شده در فلور واژن زنان باردار می‌باشد.

روش بررسی: این مطالعه از نوع توصیفی بوده که از ۲۵۰ خانم باردار در هفته ۳۷- ۳۵ بارداری بوسیله سواپهای استریل از ترشحات مخاط واژن و رکتوم نمونه برداری شد. نمونه‌ها از نظر وجود استرپتوکوک گروه B بوسیله کشت استاندارد در محیط بلاد آگار و Tood Hewitt Broth و آزمون PCR ژن CFb مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها : در ۲۱ زن از۲۵۰ نفر(۸/٤٪) نتایج کشت از واژن و رکتوم مثبت بود. در آزمون PCR کلونیزاسیون استرپتوکوک گروه B در ۲٤ نفر از۲۵۰(۹/٦٪) مورد خانم باردار از واژن و رکتوم مثبت بود. در مقایسه نتایج کشت حساسیت آزمون PCR و ارزش اخباری منفی آنها۱۰۰٪ و۱۰۰٪ بود. ویژگی و ارزش اخباری مثبت در آزمون PCR ۹۷٪ و ۸۲٪ بود. مدت زمان لازم برای حصول نتیجه در آزمون PCR حدوداً ۲ ساعت و در مورد کشت ۳٦ ساعت بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به داده‌های این مطالعه اینگونه می‌توان استنباط کرد که روش PCR دارای حساسیت و ویژگی بالایی هست و در نتیجه کلونیزاسیون استرپتوکوک گروه B را با اطمینان و به سرعت می‌توان تشخیص داد.

واژه‌های کلیدی: استرپتوکوک گروهB ، عفونت‌های استرپتوکوکی، زنان باردار، آزمونPCR

* نویسنده مسئول :
دکتر محمد مهدی سلطان دلال ؛
دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
Email :
Soltanirad34@ yahoo.com

- دریافت مقاله : اردیبهشت ۱۳۹۰ - پذیرش مقاله : مرداد ۱۳۹۰

مقدمه

مطالعات مختلف نشان داده‌اند طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌های مختلف شامل استرپتوکوک‌های گروه B(GBS)، گاردنرلا واژینالیس، اشریشیا کلی، تریکوموناس و کاندیدا آلبیکانس در زایمان زودرس نقش دارند(۳-۱).

GBS که به عنوان استرپتوکوکوس agalactia نیز شناخته شده است در واژن زنان کلونیزه شده و با بسیاری از مشکلات زنان مانند زایمان زودرس، پارگی کیسه آب و تب پس از زایمان مرتبط می‌باشد(٤).

تقریباً ۳۰-۱۰٪ از زنان باردار که باکتری GBS در بدن آنها کلونیزه شده، هم در رکتوم و هم در واژن خود حامل باکتری هستند و ۷۰-۵۰٪ این زنان GBS را به نوزادان خود منتقل می‌کنند(۵). بنابراین، شناسایی

[۱] دانشیار گروه علوم آزمایشگاهی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۲] کارشناس ارشد میکروب شناسی گروه پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۳] استاد گروه پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
[٤] دانشیار گروه علوم آزمایشگاهی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی یزد

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 14:02 IRDT on Saturday July 22nd 2017

کلونیزاسیون GBS در زنان، امری ضروری برای پیشگیری نوزادان از عفونت GBS می‌باشد.

در سال ۱۹۹٦، مرکز کنترل پیشگیری و بیمار(CDC) دستورالعمل‌هایی برای پیشگیری از بیماری استرپتوکوک گروه ب پیش از تولد منتشر کرد که در آن توصیه به پروفیلاکسی آنتی بیوتیک در هنگام زایمان در زنان با فاکتورهای خطر(تب، زایمان زودرس در حاملگی زودتر از ۳۷ هفته و پارگی کیسه آب) و غربالگری کلونیزاسیون GBS در زنان پیش از تولد را توصیه نمود(٦).

اگرچه مطالعات نشان می‌دهد تا۵۰٪ از نوزادان با بیماریGBS از مادران حامل بدون عوامل خطر به دنیا می‌آیند، اما در سال ۲۰۰۲ در دستورالعمل‌های CDC تجدید نظر شد و غربالگری باکتریولوژیک برای تمام زنان باردار در۳۷-۳۵ هفته از بارداری اجباری گردید(۸-۷).

شیوع واژینوز باکتریایی در میان گروه‌های قومی و مکان‌های جغرافیایی به طور گسترده‌ای متفاوت است(۱۰-۹). لذا پیشنهاد شده است که رابطه آن با زایمان زودرس به طور جداگانه در هر کشور بررسی شود(۱۱). روش استاندارد برای تشخیص گروه ب استرپتوکوک کلونیزه شده مبتنی بر کشت ترشحات واژن در محیط براث انتخابی که مهار رشد دیگر میکروارگانیسم‌ها را دارد، می‌باشد(۱۲).

با این حال، این روش نیاز به حداقل ۳٦ ساعت زمان، به دلیل انکوبه نمودن براث به مدت ۱۸ تا ۲٤ ساعت و سپس subcultured در پلیت آگار و گروه ب استرپتوکوک با استفاده از معیارهای مربوط به میکروب شناسی شناسایی دارد. روش استاندارد برای تشخیص شامل کشت از ترشحات واژن و مقعد می‌باشد. با توجه به مشکلات متعددی که از نظر طولانی بودن زمان کشت و تشخیص باکتری می‌باشد، روشهایی مانند PCR که در مدت کوتاهتر و با دقت بیشتر سبب شناسایی باکتری و درمان به موقع و جلوگیری از درمان غیر ضروری در مواردی که کلونیزاسیون وجود ندارد، مورد نیاز می‌باشد(۱٦-۱۳). مطالعه حاضر با هدف بررسی مولکولی استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه B کلونیزه شده در فلور واژن زنان باردار انجام شده است.

روش بررسی

در این تحقیق که از نوع توصیفی است،۲۵۰ نمونه از واژن و۲۵۰ نمونه از مقعد۲۵۰ زن باردار که در هفته ۳۵ تا ۳۷ بارداری بوده و تحت نظر جهت زایمان بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه گیری همزمان جهت آزمایش کشت و PCR با استفاده از سواپ‌های استریل انجام گردید. دو سوآپ اول(یکی از واژن و یکی از مقعد) برای بررسی مستقیم نمونه‌ها بکار برده شد. ۲ سوآپ بعدی در داخل محیط ترانسپورت استوارت قرار گرفته و به آزمایشگاه منتقل شد که هر ۲ سوآپ داخل بافر PBS جهت انجام آزمون PCR قرار داده شد(۱۷).

جهت انجام آزمایش کشت نمونه‌های انتقالی از طریق محیط استورات به محیط انتخابی تادویت براث(Todd Hewith Broth) که حاوی ۱۰ میکروگرم در میلی لیتر جنتامایسین و ۱۵ میکرو گرم در میلی لیتر نالیدیکسیک اسید می‌باشد، منتقل شده و سپس به مدت ۲٤ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند(۸). بوسیله لوپ استریل مقداری از این محیط را در پلیت‌های بلاد آگار حاوی ۵٪ خون دفیبرینه گوسفند تلقیح و در Candle gar واجد ۵٪ CO_2 در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد.

در این تحقیق کوکسی‌های گرم مثبتی که کاتالاز منفی بودند، از کشت اولیه بلادآگار انتخاب شده و بر روی آنها تست‌های اختصاصی همولیزB، واکنش CAMP، تولید پیگمان در شرایط بی‌هوازی، هیدرولیز هیپورات

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 14:02 IRDT on Saturday July 22nd 2017

سدیم، حساسیت به دیسک‌های باسیتراسین ۳٪ واحد،SXT (تری متوپریم سولفامتوکسازول)، رشد در محیط حاوی ٦/٥ درصد کلروسدیم برای تمایز گونه‌های مختلف جنس استرپتوکوک انجام گردید(۱۸). روش کار جهت آزمون PCR: سوآپ‌هایی که در لوله‌های حاوی PBS قرار داشت را به آزمایشگاه منتقل و تا زمان انجام آزمایش در ۷۰°c- قرار داده شدند. جهت استخراج DNA از کیت Bioneer (ساخت کره) استفاده شد. ابتدا نمونه‌هایی که در ۷۰°c- ذخیره شده بود از فریزر خارج نموده و بر اساس پروتکل کیت مراحل استخراج DNA انجام گرفت. بعنوان کنترل مثبت DNA، ژنومی خالص شده از استرپتوکوک گروه B که از آزمایشگاه رفرنس تهیه شده بود استفاده شد. در این مطالعه یک قطعه اختصاصی از ژن cfb استرپتوکوک گروه B به اندازه 153bp را تکثیر شد که توالی پرایمرهای اختصاصی شامل Sag^{059}, Sag^{190} بودند که جهت تکثیر DNA ژنومی بعنوان الگو انتخاب شدند(۲۰-۱۹).

Sag^{59}: 5-TTTCACC AGCTGTATTA GAATA-3`

Sag^{190}: 5-GTTCCCTGAACATTATCTTTGAT-3`

آزمون PCR: نمونه‌های DNA استخراج شده زنان باردار و DNA سوش استاندارد را از یخچال خارج نموده و به ترتیب در هر run تعدادی از نمونه‌ها، یک کنترل منفی و یک کنترل مثبت مورد آزمایش قرار گرفت. جهت تکثیر ابتدا Master mix را به مدت ۳ دقیقه در دمای ۹٤°c قرار داده تا مرحله intial cycle انجام گیرد. بعد از آن ۳۵ چرخه در دمای ۹٤°c به مدت ۱ دقیقه جهت Denaturation و سپس ۳۵ چرخه در دمای ٤۳°c به مدت ۱ دقیقه برای مرحله Annealing و ۳۵ چرخه در دمای ۷۲°c به مدت یک دقیقه برای Extension و نهایتاً یک چرخه در دمای ۷۲°c برای ۳ دقیقه انجام شد. متعاقباً ۱۰ میکرولیتر از مخلوط حاصله بر روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شد. کل این فرآیند ۱۰۵ دقیقه بطول انجامید. میزان کلونیزاسیون بر اساس نتایج کشت و آزمون PCR در مورد هر نمونه محاسبه شد و حساسیت و ویژگی و ارزش اخباری مثبت بر اساس روش STATA 8 (Stata corp LP, College station, TX) بر روی برنامه ویندوز XP و همچنین نتایج آماری با استفاده از نرم افزار SPSS محاسبه گردید(۲۱).

یافته ها

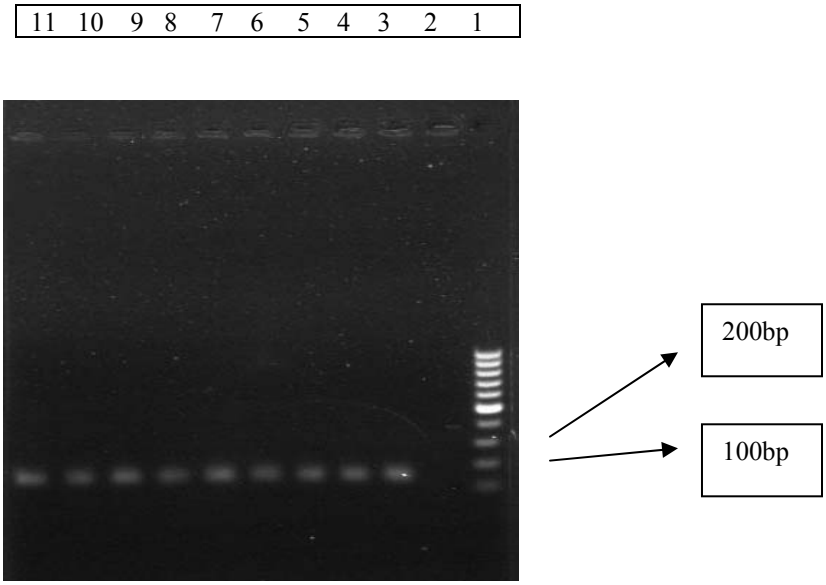
از میان ۲۵۰ خانم باردار با استفاده از روش کشت، ۲۱ نفر حامل استرپتوکوک‌های گروه B بودند(۸/٤٪) که با استفاده از آزمون PCR ٢٤ نفر حامل بودند(۹/٦٪). این نتایج بر اساس کشت و آزمون PCR برای نمونه‌های واژینال و مقعدی(هردو) بوده است.

بر اساس نتایج PCR، ۳ نفر حامل GBS تشخیص داده شدند که بوسیله روش کشت نتیجه منفی داشتند(جدول ۱، شکل ۱).

جدول۱ : توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد بر اساس نتایج کشت و PCR(رکتال و واژینال)

محل نمونه گیری	نوع کشت نتیجه آزمایش	PCR تعداد	PCR درصد	کشت تعداد	کشت درصد
واژن	مثبت	٢٤	۹/٦	۲۱	۸/٤
	منفی	۲۲٦	۹۰/٤	۲۲۹	۹۱/٦
	جمع	۲۵۰	۱۰۰	۲۵۰	۱۰۰
مقعد	مثبت	٢٤	۹/٦	۲۱	۸/٤
	منفی	۲۲٦	۹۰/٤	۲۲۹	۹۱/٦
	جمع	۲۵۰	۱۰۰	۲۵۰	۱۰۰

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 14:02 IRDT on Saturday July 22nd 2017



شکل (۱): الکتروفورز حاصل از PCR

ردیف ۱: سایز مارکر ردیف ۲: کنترل منفی ردیف ۳: کنترل مثبت ردیف ۱۱-٤: نمونه های بالینی

میزان توافق دو روش PCR و کشت برای نمونه گرفته شده از واژن و رکتوم، در افرادیکه سابقه سقط نداشتند در حد مطلوب با ضریب کاپای ۸٦٪ که از نظر آماری در سطح معناداری ۵٪ با P-value کمتر از ۰/۰۰۱ معنادار می‌باشد و میزان توافق دو روش PCR و کشت برای نمونه گرفته شده از واژن در افرادیکه سابقه سقط داشتند توافق کامل با ضریب کاپای ۱۰۰٪ که از نظر آماری در سطح معناداری ۵٪ با P-value کمتر از ۰/۰۰۱ معنادار می باشد بدست آمد. همچنین، میزان توافق دو روش PCR و کشت برای نمونه گرفته شده از واژن و رکتوم، در افرادیکه سابقه سزارین نداشتند در حد مطلوب با ضریب کاپای ۸٦٪ که از نظر آماری در سطح معناداری ۵٪ با P-value کمتر از ۰/۰۰۱ معنادار می‌باشد و میزان توافق دو روش PCR و کشت برای نمونه گرفته شده از واژن در افرادیکه سابقه سزارین داشتند توافق کامل با ضریب کاپای ۱۰۰٪ که از نظر آماری در سطح معناداری ۵٪ با P-value کمتر از ۰/۰۰۱ معنادار می‌باشد، حاصل شد.

میزان توافق دو روش PCR و کشت برای نمونه گرفته شده ازواژن و رکتوم درافرادیکه سابقه بیماری تناسلی نداشتند، در حد مطلوب با ضریب کاپای ۸٤٪ که از نظر آماری در سطح معناداری ۵٪ با P-value کمتر از ۰/۰۰۱ معنادار بود بدست آمد و میزان توافق دو روش PCR و کشت برای نمونه گرفته شده از واژن در افرادیکه سابقه بیماری تناسلی داشتند در حد مطلوب با ضریب کاپای ۱۰۰٪ که از نظر آماری در سطح معناداری ۵٪ با P-value کمتر از ۰/۰۰۱ معنادار می‌باشد. میزان توافق دو روش PCR و کشت برای نمونه گرفته شده از واژن و رکتوم در افرادیکه اخیراً سابقه مصرف آنتی بیوتیک نداشتند، در حد مطلوب با ضریب کاپای ۸۷٪ که از نظر آماری در سطح معناداری ۵٪ با P-value کمتر از۰/۰۰۱ معنادار بوده و میزان توافق دو روش PCR و کشت برای نمونه گرفته شده از واژن در افرادی که سابقه مصرف اخیر انتی بیوتیک داشتند در حد مطلوب با ضریب کاپای ۱۰۰٪ که از نظر آماری در سطح معناداری ۵٪ با P-value کمتر از ۰/۰۰۱ معنادار بدست آمد(جدول۲).

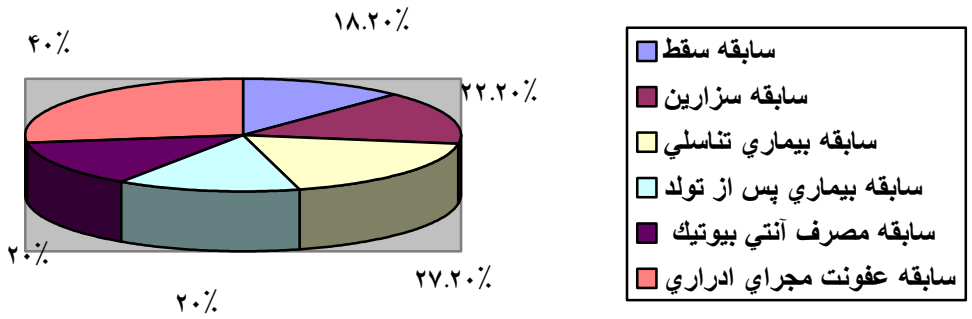
Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 14:02 IRDT on Saturday July 22nd 2017

جدول ۲ : میزان توافق دو روش PCR و کشت برای نمونه گرفته شده از واژن و رکتوم بر حسب متغیرهای مختلف

نوع کشت		رکتوم		واژن	
متغیر		P-value	کاپا	P-value	کاپا
سابقه سقط	دارد	<۰/۰۰۱	۱	<۰/۰۰۱	۱
	ندارد	<۰/۰۰۱	۰/۸٦	<۰/۰۰۱	۰/۸٦
سابقه بیماری تناسلی	دارد	<۰/۰۰۱	۱	<۰/۰۰۱	۱
	ندارد	<۰/۰۰۱	۰/۸٤	<۰/۰۰۱	۰/۸٤
سابقه بیماری پس از تولد	دارد	<۰/۰۰۱	۱	<۰/۰۰۱	۱
	ندارد	<۰/۰۰۱	۰/۸۸	<۰/۰۰۱	۰/۸۸
سابقه مصرف آنتی بیوتیک	دارد	<۰/۰۰۱	۱	<۰/۰۰۱	۱
	ندارد	<۰/۰۰۱	۰/۸۷	<۰/۰۰۱	۰/۸۷
سابقه عفونت مجرای ادراری	دارد	<۰/۰۰۱	۱	<۰/۰۰۱	۱
	ندارد	<۰/۰۰۱	۰/۸٤	<۰/۰۰۱	۰/۸٤
سزارین	دارد	<۰/۰۰۱	۱	<۰/۰۰۱	۱
	ندارد	<۰/۰۰۱	۰/۸٦	<۰/۰۰۱	۰/۸٦

۷۷/٦٪ از نمونه‌ها از افراد ساکن تهران بودند. ۲۱٪ از کل نمونه‌ها سابقه سقط و سزارین داشتند. ۳٪ از کل نمونه سابقه دیابت داشته و از ۱٦/۸٪ نمونه‌ها سابقه بیماری تناسلی بدست آمد. ۵/٦٪ از نمونه نوزادها با سابقه بیماری پس از تولد همراه بودند. ۱۲/۸٪ از نمونه سابقه مصرف آنتی بیوتیک داشتند. ٤٦٪ از کل افراد از IUD جهت جلوگیری از بارداری استفاده می‌کردند. ۲۰٪ افراد سابقه عفونت مجرای ادراری داشتند(نمودار۱).

میزان آلودگی به GBS در روش کشت بر حسب متغیرهای مختلف



نمودار ۱ : توزیع فراوانی GBS بر حسب متغیرهای مختلف

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 14:02 IRDT on Saturday July 22nd 2017

با در نظر گرفتن روش کشت بعنوان استاندارد حساسیت روش PCR(۱۰۰٪) و ویژگی آن ۹۸٪ می‌باشد. ارزش اخباری مثبت آزمون PCR، ۸۳٪ و ارزش اخباری منفی آن ۱۰۰٪ بدست آمد .

بحث

استرپتوکوک گروه ب(GBS) یکی از عوامل مهم عفونت در زنان باردار و نوزادان می‌باشد. ناقلین GBS به دلایل اجتماعی، اقتصادی، جغرافیایی و نژادی در سرتاسر جهان متفاوت و بستگی به دقت در روش آزمایشگاهی دارد(۲۸-۲۲).

طبق نظر McGregor و همکاران تمامی زنان باردار می‌بایستی در هفته‌های اول بارداری برای تشخیص واژینوز باکتریایی و درمان به موقع آن اقدام نمایند(۲۹). Leitich و همکاران در سال ۲۰۰۳ نشان دادند که واژینوز باکتریایی یک فاکتور خطر برای زایمان زودرس و سقط جنین است(۳۰).

Stoll و همکاران در ۱۹۹۸ طی گزارشی شیوع GBS را در کشورهایی در مناطق مختلف جغرافیایی دنیا نشان دادند، بطوریکه در خاورمیانه و شمال آفریقا۲۲٪، آسیا و اقیانوسیه۱۹٪، صحرای آفریقا۱۹٪، هند و پاکستان۱۲٪ و آمریکا ۱٤٪(۳۱). همچنین مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داد که کلونیزاسیون GBS در میان زنان ایرانی از ۹/۱ تا ۲٦/۷٪ می‌باشد(۳٦-۳۲).

اختلاف گسترده در درصد حاملین GBS در ایران ممکن است ناشی از سایت‌های مختلف جمع آوری نمونه، بار باکتریایی در نمونه سواپ، سن بارداری در زمان نمونه گیری و تفاوت در روش تشخیصی باشد.

برای شناسایی سریع GBS با استفاده از روش کشت بر اساس تولید پیگمان چندین محیط کشت معرفی شده است(۳۸-۳٦).

حساسیت روش استاندارد با استفاده از محیط انتخابی تادویت براث(Todd-Hewitt broth) برای شناسایی ناقلین واژینال و رکتال از نظر GBS ۹۷٪ و ۹۰/۹٪ بوده و مقادیر مشابه برای محیط GBS آگار ۹۳/۹٪ و ۹۲/۲٪ و این مقادیر برای آبگوشت GBS براث کمی کمتر به ترتیب ۸۹/٤٪ و ۸۷ ٪ بوده است(۱۷).

با توجه به اهمیت کوتاه نمودن زمان در تشخیص، روش‌های مولکولی رایج مانند PCR به طور گسترده‌ای برای شناسایی باکتری‌ها از جمله GBS استفاده شده‌اند. صحت سنجش PCR به طراحی جفت پرایمرهای مخصوص به گونه بستگی دارد. بنابراین در این تحقیق از پرایمرهای الیگونوکلئوتیدی بسیار خاص طراحی شده برای ناحیه بسیار متغیر ژن ۱٦SrRNA استفاده گردید(۳۹).

استفاده از روش مولکولی در تحقیق ما سبب شد که نتایج شناسایی GBS از ۸/٤٪ به ۹/٦٪ افزایش پیدا کند. در این مطالعه در ۳ زن GBS مثبت را به وسیله‌ی PCR و نه به واسطه کشت آشکار گردید. در مقایسه نتایج کشت حساسیت آزمون PCR و ارزش اخباری منفی آنها۱۰۰٪ و۱۰۰٪ بود. ویژگی و ارزش اخباری مثبت در آزمون PCR ۹۷٪ و ۸۲٪ بود.

Eren A و همکاران در سال ۲۰۰۵ در ترکیه مطالعه‌ای انجام داده اند که ۵۰۰ نمونه خانمهای حامله را مورد بررسی قرار داده که درصد آلودگی را ۹/۲٪ گزارش نموده‌اند و با توجه به همسایگی آن با کشور ما نتایج تحقیق ما نیز از نزدیکی درصد آلودگی به GBS در دو کشور خبر می‌دهد(٤۰).

UhI JR و همکاران در سال ۲۰۰۵ برای تعیین ناقلین GBS، نمونه‌های گرفته شده از رکتوم و واژن را بدو روش Real-time PCR مورد بررسی قرار دادند که نتایج بدست آمده حاکی از حساسیت(۱۰۰٪) و ویژگی(۹۷٪) و ارزش اخباری مثبت(۹۰٪) و ارزش

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 14:02 IRDT on Saturday July 22nd 2017

اخباری منفی(۱۰۰٪) بود که با نتایج بدست آمده از تحقیق ما هم‌خوانی دارد(٤١).

مطالعه دیگری توسط Fabien Rallu و همکاران در سال ۲۰۰٦ که از روش PCR و کشت و شناسایی آنتی ژن جهت حاملین GBS استفاده نمودند که ٦٠٥ نمونه تست شده بوسیله این روشها با روش کشت ۹٦ نمونه(١٦٪) و با روش PCR(ژن Cfb) ۱۷۱ نمونه(۲۸٪) و با استفاده از PCR (ژن SCP B) ۲۲٦ نمونه مثبت (۳۷٪) بدست آوردند. در مطالعه فوق حساسیت و ویژگی PCR با ژن SCP D به ترتیب ۹۹/٦٪ و ۱۰۰٪ بوده در مورد PCR با ژن Cfb به ترتیب ۷۵/۳٪ و ۱۰۰٪ بود و حساسیت و ویژگی شناسایی آنتی ژن ۵۷/۳٪ و ۹۹/۵ ٪ و برای کشت ٤۲/۳٪و ۱۰۰٪گزارش گردید.

در این تحقیق ارزش اخباری منفی برای PCR (ژن Cfb) ۱۰۰٪ (۱۰۰-۹۸) و برای کشت ۱۰۰٪ (۱۰۰-۹٦) بوده و ارزش اخباری مثبت برای PCR(ژن Cfb) ۸۷/۱ ٪(۹۰-۸٤) و برای کشت ۷٤/۳(۷۸-۷۰) می‌باشد(٤۲).

نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر در شهر تهران در تهران(۸٪) و عبداللهی فرد در تبریز(۹/٦٪) نشان داد که میزان شیوع استرپتوکوک گروه B در واژن و رکتوم زنان باردار به یک میزان است، درحالی که نتایج نخعی مقدم در مشهد ۱۱٪ در نمونه‌های واژن و ۱۲٪ در رکتال، در تبریز کلونیزاسیون واژینال و رکتال مشابه ۹/٦٪ و در مطالعه El-Kersh در عربستان، ۳۳٪ نمونه‌های واژن در مقابل ۱۷٪ نمونه‌های رکتال مثبت بوده‌اند(٤٤-٤۳و۳۵).

نتیجه گیری

در نهایت با توجه به پیشنهاد CDC در خصوص تمامی زنان باردار که می‌بایستی بین هفته ۳۷-۳۵ بارداری از نظر حامل بودن GBS بررسی و آنتی بیوتیک درمانی شوند و به منظور استفاده به جا و به موقع آنتی بیوتیک و جلوگیری از مصرف بی مورد آنتی بیوتیک در غیر ناقلین، کوتاه شدن زمان تشخیص توسط تکنیک PCR و حساس و دقیق بودن این تکنیک استفاده از آن پیشنهاد می‌شود.

منابع

1. Wilk K, Sikora J, Bakon I, Kossowski P, Szymanska-Toczek Z, Szkodny E, et al. Significance of group B Streptococcus(GBS) infections in parturient women. Ginekol Pol 2003; 74(6): 463-7.

2. Meis PJ, Goldenberg RL, Mercer B, Moawad A, Das A, McNellis D, et al. The preterm prediction study: significance of vaginal in fections. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. Am J Obstet Gynecol 1995; 173(4): 1231-5.

3. Heimrath J, Pajak J, Panczak K, Lados A. Analysis of bacterial flora in the uterine cervix in women during preterm labor. Ginekol Pol 2000; 71(4): 263-7.

4. Lpez Sastre JB, Fernںndez Colomer B, Coto Cotallo GD, Ramos Aparicio A, Grupo de Hospitales Castrillo. Trends in the epidemiology of neonatal sepsis of vertical transmission in the era of group B streptococcal prevention. *Act Paediatr* 2005; 94(4): 451-7.

5. Cunningham FG, Williams JW. Williams Obstetrics. 22nd ed. New York: McGraw-Hill: Medical Pub Division; 2005 : 39–90.

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 14:02 IRDT on Saturday July 22nd 2017

6. CDC. Prevention of perinatal group B Streptococcal disease: a public health perspective. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm Rep 1996; 45(7): 1-24.

7. Schuchat A. Epidemiology of group B Streptococcal disease in the United States: shifting paradigms. Clin Microbiol Rev 1998; 11(3): 497-513.

8. Schrag S, Gorwitz R, Fultz-Butts K, Schuchat A. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. MMWR Recomm Rep 2002; 51(11): 1-22.

9. Campbell JR, Hillier SL, Krohn MA, Ferrieri P, Zaleznik DF, Baker CJ, et al. Gropu B Streptococcal colonization and serotype-specificimmunityinpregnant women at delivery. Obst Gynacol 2000; 96(4): 498-503.

10. Tolosa JE, Chaithongwongwatthana S, Daly S, Maw WW, Gaitan H, Lumbiganon P, et al. The International Infections in Pregnancy (IIP) study: variations in the prevalence of Bacterial Vaginosis and distribution of morphotypes in vaginal smears among pregnant women. Am J Obstet Gynecol 2006; 195(5): 1198-204.

11. Goffinet F, Maillard F, Mihoubi N, Kayem G, Papiernik E, Cabrol D, et al. Bacterial Vaginosis: prevalence and predictive value for premature delivery and neonatal infection in women with preterm labour and intact membranes. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2003; 108(2): 146-51.

12. Baker C. Summary of the workshop on perinatal infections due to group B Streptococcus. J Infect Dis 1977 Jul; 136(1): 137-52.

13. Rosa-Fraile M, Sampedro A, Varela J, Garcia-Pena M, Gimenez-Gallego G. Identification of a peptide from mammal albumins responsible for enhanced pigment production by group B Streptococci. Clin Diagn Lab Immunol 1999 May; 6(3): 425-6.

14. Rosa-Fraile M, Rodriguez-Granger J, Cueto-Lopez M, Sampedro A, Gaye EB, Haro JM, et al. Use of Granada medium to detect group B Streptococcal colonization in pregnant women. J Clin Microbiol 1999 Aug; 37(8): 2674-7.

15. Gil EG, Rodriguez MC, Bartolome R, Berjano B, CaberoL, Andreu A. Evaluation of the Granada agar plate for detection of vaginal and rectal group B Streptococci in pregnant women. J Clin Microbiol 1999 Aug; 37(8): 2648-51.

16. De la Rosa M, Perez M, Carazo C, Pareja L, Peis JI, Hernandez F. New Granada Medium for detection and identification of group B Streptococci. J Clin Microbiol 1992 Apr; 30(4): 1019-21.

17.Votava M, Tejkalova M, Drabkova M, unzeitig V, Braveny I. Use of GBS media for rapid detection of group B Streptococci in vaginal and rectal swabs from women in labor. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2001; 20(2): 120-2.

18. Ke D, Menard C, Picard FJ, Boissinot M, Ouellette M, Roy PH, et al. Development of conventional and real-time PCR assays for the rapid detection of group B Streptococci. Clin Chem 2000; 46(3): 324-31.

19. Bergerom M, Ke D, Menard CH, Francois F, Ggnon M, Bernier M, et al .Rapid Detection of Group B Streptococci in Pregnant Women at Delivery. The New England Journal of Medicine 2000; 343(1): 175-9.

20. Dmitriev AA, Suvorov AD, Shen Y, Yang H. Clinical diagnosis of group B s Streptoccocci by sepB gene bascd PCR. Indian J Med Res 2004; 119(1): 233-6.

21. Seed PT. Summary Statistics For Diagnostic Test. Stata Technical Bull 2001; 59(1): 9-12.

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 14:02 IRDT on Saturday July 22nd 2017

22. Barcaite E, Bartusevicius A, Tameliene R, Kliucinskas M, Maleckiene L, Nadisauskiene R. Prevalence of maternal group B Streptococcal colonisation in European countries. Acta Obstet Gynecol Scand 2008; 87(3): 260-71.

23. Valkenburg-van den Berg AW, Sprij AJ, Oostvogel PM, Mutsaers JA, Renes WB, Rosendaal FR, et al. Prevalence of colonisation with group B Streptococci in pregnant women of a multi-ethnic population in The Netherlands. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2006; 124(2):178-83.

24. Elkhoja H, Arebi A, Hwewi S, Saif AnserN, Zorgani A, Elbadri A. Group B Streptococcus colonizationrisk factors among Libyan pregnant women. The Libyan Journal of Infectious Diseases 2010; 4(1): 34-40.

25. Chan KL, Levi k, Towner KJ, Weston VC, Ramsay MM, Kean LH. Evaluation of the sensitivity of a rapid polymerase chain reaction for detection of group B streptococcusJ. Obstet Gynaecol 2006; 26(5): 402-6.

26. Artz lA, Kempf VAJ, Autenrieth IB. Rapid screening for Streptococcus agalactiae in vaginal specimens of pregnant women by fluorescent in situ hybridization. J Clin Microbiol 2003 May; 41(5): 2170–3.

27. Atkins KL, Atkinson RM, Shanks A, Parvin CA, Dunne WM, Gross G. Evaluation of polymerase chain reaction for group B Streptococcus detection using an improved culture method. Obstet Gynecol 2006; 108(1-3): 488-91.

28. Anukam KC, Reid G. Organisms associated with bacterial vaginosis in Nigerian women as determined by PCRDGGE and 16S rRNA gene sequence. Afr Health Sci 2007; 7(2): 68-72.

29. McGregor JA, French JI. Bacterial Vaginosis in pregnancy. Obstet Gynecol Surv 2000; 55(1-5): 1-19.

30. Leitich H, Bodner-Adler B, Brunbauer M, Kaider A, Egarter C, Husslein P. Bacterial Vaginosis as a risk factor for preterm delivery: a meta-analysis. Am J Obstet Gynecol 2003; 189(1): 139-47.

31. Stoll BJ, Schuchat A. Maternal carriage of group B Streptococci in developing countries. Pediatr Infect Dis J 1998; 17(6): 499-503.

32. Rabiee S, Arab M, Mashouf R. Epidemiologic pattern of vaginal colonization by group B Streptococcus in pregnant women in Hamadan, Central west of Iran. Iran J Med Sci 2006; 31(2): 106-68.

33. Aali BS, Abdollahi H, Nakhaee N, Davazdahemami Z, Mehdizadeh A. The association of preterm labor with vaginal colonization of group B streptococci. IJRM 2007; 5(4): 191-4.

34. Namavar Jahromi B, Poorarian S, Poorbarfehee S. The prevalence and adverse effects of group B Streptococcal colonization during pregnancy. Arch Iran Med 2008; 11(6): 654-7.

35. Nakhaei Moghaddam M. Recto-Vaginal colonization of Group B Streptococcus in pregnant women referred to a hospital in Iran and its effect on Lactobacillus normal flora. J Biol Sci 2010; 10(1):166-9.

36. Fatemi F, Pakzad P, Zeraati H, Talebi S, Asgari S , Akhondi MM. Comparative Molecular and Microbiologic Diagnosis of Vaginal Colonization by Group B Streptococcus in Pregnant Women during Labor. Iranian Journal of Basic Medical Sciences 2010; 13(4): 183-8.

37. Gil EG, Rodriguez MC, Bartolome R, Berjano B, CaberoL, Andreu A. Evaluation of the Granada agar plate for detectionof vaginal and rectal group B streptococci in pregnant women. J Clin Microbiol 1999 Aug; 37(8): 2648-51.

38. Islam AK. Rapid recognition of group-B Streptococci. Lancet 1977 Jan; 1(8005): 256-7.

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 14:02 IRDT on Saturday July 22nd 2017

39. Riffon R, Sayasith K, Khalil H, Dubreuil P, Drolet M, Lagace J. Development of a rapid and sensitive test for identification of major pathogens in bovine mastitis by PCR. J Clin Microbiol 2001; 39(7): 2584-9.

40. Eren A, Kucukercon M, Oguzoglu N, Unal N, Karateke A. The carriage of group B streptococci in Turkish pregnant women and its transmission rate in newborns and serotype distribution. Turk J Pediater 2005; 47(1): 28-33.

41. UhI JR, Vetter EA, Boldt KL, Johnston BW, Ramin KD, Adams MJ, et al. Use of the Roche LightCycler Strep B assay for detection of group B Streptococcus from vaginal and rectal swabs. J Clin Microbil 2005. 43(8): 4046-51.

42. Rallu F, Barriga P, Scrivo C, Martel-Laferriere V, Laferriere C. Sensitivities of antigen detection and PCR assays greatly increased compared to that of the standard culture method for screening for group B Streptococcus carriage in pregnant women. Canada Journal of Clinical Microbiology 2006; 44(3): 725-8.

43. Abdolhhahi Fard S, Ghotaslloo R, Zafardoost S. Study on colonization of group B streptococus (GBS) and relationship with perintal complication in pregnant women referred to Alzahra hospital. Research Journal of Biological Sciences 2008; 3(7): 726-8.

44. EL-Kersh TA, Al-Nuaim LA, Kharfy TA, Al-Shammary FJ, Al-Saleh SS, Al-Zamel FA. Detection of genital colonization of group B Streptococci during late pregnancy. Saudi Med J 2002; 23(1): 56-61.

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 14:02 IRDT on Saturday July 22nd 2017

Study of Molecular Epidemiologic of Group B Streptococcus Colonization in Pregnant Women by PCR Method

Sharifi Yazdi Mohammad Kazem[1](PHD) - Bakhtiari Ronak[2](MSc.)
Mobasseri Golnaz[2](MSc.) - Soltan Dallal Mohammad Mahdi[3](PHD)
Khalili Mohammad Bagher[4](PHD)

1Associated Professor, Medical Laboratory Sciences Department, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2 Master of Sciences in Microbiology, Pathobiology Department, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3 Professor, Pathobiology Department, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4 Associate Professor, Medical Laboratory Sciences Department, School of Allied Medical Sciences, Yazd University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Abstract

Received : May 2011
Accepted : Jul 2011

Background and Aim: Group B streptococcus(GBS)(Streptococcus agalactiae) is the leading cause of morbidity and mortality of the newborn infant and accounted as a factor leading septicemia after birth in mothers. Infections in infants are usually acquired by contact with the genital tract of the mother during labor and delivery. So a rapid screening test for group B streptococcus that could accurately identify pregnant women who are carrying the bacteria at the time of delivery would obviate the need for prenatal screening. The goal of this study was molecular epidemiology of group B beta Hemolytic Streptococcal(GBS) colo**nization in the vaginal flora of pregnant women.**

Materials and Methods: Samples were taken from mucus of anal and vaginal of 250 pregnant women during 35-37 week's ingestion by swap. Samples were tested by standard culture using Todd Hewitt Broth and Blood Agar and also by PCR using cfb gene.

Results: Culture identified 21(8.4%) women as carriage of GBS from 250 women but PCR assay could identify 24(9/6%) women. In comparison to culture results, sensitivity, NPV Specificity PPV of PCR Were(100%, 100% and 97%, 82%) respectively. The times that used for PCR assay and culture were 2h and 36h respectively.

Conclusion: In conclusion, we found that group B streptococci can be detected rapidly and reliably by a PCR assay of combined vaginal and anal secretions from pregnant women at the time of delivery. Also this study shows that incidence of GBS is at high rate in Iranian pregnant woman, so we recommend screening of pregnant woman for detecting of GBS emphatically.

Key words: Group B Streptococcus, Streptococcal Infection, Pregnant Women, PCR Assay

*** Corresponding author:**
Soltan dallal MM;
E -mail:
Soltanirad34@ yahoo.com