Archive of SID

Original Article

Frequency of group B capsular serotypes of *Streptococcus* using the multiplex PCR among the pregnant women in Kashan during 2011-2013

Yasini M[1], Safari M[2*], Khorshidi A[2], Moniri R[3], Mousavi GA[4], Samimi M[5]

1- Student Research Committee, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.
2- Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.
3- Anatomical Sciences Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.
4- Trauma Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.
5- Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received December 8, 2012; Accepted March 13, 2013

Abstract:

Background: Group B *Streptococcus* (GBS) has been described as an important pathogen in newborns and pregnant women. Maternal vaccination against GBS can reduce maternal GBS colonization and enhance antibody transfer to the fetus and also prevent the subsequent infections. Nine serotypes can be identified based on capsular polysaccharide: Ia, Ib, II-VIII. Due to the changes in serotypes' distribution pattern over time and also variation in different geographic areas, production of a universally optimal vaccine is impossible. This study aimed to evaluate the serotype distribution of GBS using the multiplex PCR among the pregnant women.

Materials and Methods: This study was performed on 382 pregnant women. Vaginal swab samples were placed in the LIM selective medium and incubated at 37°C for 24 h. Then the samples were cultured in blood Agar medium and the GBS was identified and confirmed using the standard tests and gene encoding *dlts*, respectively. Capsular typing was performed using the multiplex PCR method to identify the Ia,Ib,II-VIII serotypes.

Results: Thirty-six (9.4 %) out of 382 pregnant women were carriers of GBS. The most common types were III (32.14%), V (21.43%), and IV (14.3%), respectively. Types II and VIII were not identified in this study.

Conclusion: Considering the high prevalence of III, V and IV serotypes in this study, they are potential sources for the production of multivalent GBS vaccines in near future.

Keywords: Group B *Streptococcus*, Pregnant women, Serotype, Multiplex PCR

* **Corresponding Author.**
Email: saffari_m@kaums.ac.ir
Tel: 0098 361 555 0021
Fax: 0098 361 555 1112

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences May, 2013; Vol. 17, No 2, Pages 173-180

Please cite this article as: Yasini M, Safari M, Khorshidi A, Moniri R, Mousavi GA, Samimi M. Frequency of group B capsular serotypes of *Streptococcus* using the multiplex PCR among the pregnant women in Kashan during 2011-2013. ***Feyz*** 2013; 17(2): 173-80.

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی فراوانی سروتایپ‌های کپسولی *استرپتوکوک* گروه B به‌روش Multiplex PCR در زنان باردار شهر کاشان طی سال‌های ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۱

مریم یاسینی [۱]، محمود صفاری [۲*]، احمد خورشیدی [۲]، رضوان منیری [۳]، سید غلامعباس موسوی [٤]، منصوره صمیمی [٥]

خلاصه:

سابقه و هدف: *استرپتوکوک* گروه B (GBS) به‌عنوان یک پاتوژن مهم در نوزادان و زنان باردار مطرح است. واکسیناسیون مادران می‌تواند باعث کاهش کلونیزاسیون و افزایش انتقال آنتی‌بادی به جنین شده و از عفونت‌های بعدی پیشگیری کند. برای این باکتری ۹ سروتایپ بر اساس پلی‌ساکارید کپسولی قابل شناسایی است (Ia, Ib, II-VIII). توزیع سروتایپ‌ها با گذشت زمان و در مناطق جغرافیایی مختلف تغییر می‌کند، بنابراین تولید واکسنی که به شکل جهانی مطلوب باشد، میسر نیست. هدف از انجام این مطالعه بررسی فراوانی سروتایپ‌های *استرپتوکوک* گروه B به‌روش Multiplex PCR در زنان باردار می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۳۸۲ خانم باردار مورد بررسی قرار گرفتند. سواپ‌های گرفته شده از ناحیه واژن در محیط انتخابی LIM قرار گرفته و به‌مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه گرماگذاری شدند. پس از کشت در محیط Blood Agar *استرپتوکوک* گروه B با تست‌های استاندارد شناسایی و توسط ژن کدکننده *dlts* تایید شدند. تعیین تیپ کپسولی به‌روش Multiplex PCR جهت شناسایی سروتایپ‌های Ia, Ib, II-VIII انجام شد.

نتایج: از مجموع ۳۸۲ خانم باردار، ۳٦ نفر (۹/٤ درصد) حامل *استرپتوکوک* گروه B شناخته شدند. شایع‌ترین تیپ‌ها در این مطالعه به‌ترتیب (۳۲/۱ درصد) III، (۲۱/٤ درصد) V، (۱٤/۳ درصد) IV بودند. تیپ‌های II و VIII در این مطالعه یافت نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به شیوع بالای سروتایپ‌های III، V و IV در این پژوهش، سروتایپ‌های مذکور می‌توانند در مطالعات آینده به‌منظور تولید واکسن‌های مولتی والنت ضد GBS مورد بررسی قرار گیرند.

واژگان کلیدی: *استرپتوکوک* گروه B، زنان باردار، سروتایپ، Multiplex PCR

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره هفدهم، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۲، صفحات ۱۸۰-۱۷۳

مقدمه

طی ٤۰ سال اخیر *استرپتوکوک* گروه B (GBS) به‌عنوان یک پاتوژن مهم در نوزادان و زنان باردار مطرح شده و در سال ۱۹۷۰ به‌عنوان شایع‌ترین عامل سپسیس و مننژیت نوزادی معرفی شد [۲،۱]. GBS قادر است به شکل گسترده‌ای مجاری تناسلی زنان باردار را کلونیزه کند. نتایج به‌دست آمده از مناطق جغرافیایی مختلف حاکی از شیوع ناهمگون *استرپتوکوک* گروه B می‌باشد.

مطابق با گزارشاتی که از مناطق مختلف به‌ویژه کشورهای غربی به‌دست آمده ۳۰-۱۰ درصد زنان باردار در واژن و رکتوم خود حامل باکتری هستند [۵-۳]. تقریبا ٦۰ درصد از این زنان *GBS* را به نوزاد خود منتقل می‌کنند [٦]. کلونیزاسیون زنان باردار به‌طور کلی بدون علامت است، اما باکتری می‌تواند باعث عفونت مجاری ادراری، سپتی‌سمی، کوریوآمنیونیت، اندومتریت و سقط جنین عفونی شود [۹-۷]. کلونیزاسیون و متعاقب آن بیماری در نوزاد می‌تواند در داخل رحم، هنگام عبور از کانال زایمان و یا در اولین ماه‌های زندگی رخ دهد [۱۰،۳]. در حدود یک‌درصد از نوزادان کلونیزه دچار بیماری می‌شوند [۱۱]. بیماری ناشی از *GBS* در نوزادان به دو دسته زودرس و دیررس تقسیم می‌شود. در نوع زودرس تصور می‌شود که بیماری از آلودگی رحمی یا به هنگام عبور نوزاد از واژن ایجاد می‌شود که ٢٤ ساعت پس از تولد و گاهی تا یک هفته پس از آن آشکار می‌گردد [۱۲]. سه تظاهر بالینی این عفونت عبارتند از سپتی‌سمی، پنومونی و مننژیت نوزادی که ۷۵-۷۰ درصد موارد منجر به مرگ می‌گردد [٦]. پنی‌سیلین داروی انتخابی جهت پیشگیری و درمان عفونت‌های *GBS* است و برای بیمارانی که به بتالاکتام‌ها آلرژی دارند، اریترومایسین و کلیندامایسین توصیه می‌شود [۸]. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

[۲] دانشیار، گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

[۳] استاد، مرکز تحقیقات علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

[٤] مربی، مرکز تحقیقات تروما، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

[٥] استادیار، گروه بیماری‌های زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

*نشانی نویسنده مسئول: کاشان، کیلومتر ۵ بلوارقطب راوندی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، دانشکده پیراپزشکی، گروه علوم آزمایشگاهی

تلفن: ۰۳٦۱۵۵۵۰۰۲۱ دورنویس: ۰۳٦۱۵۵۵۱۱۱۲

پست الکترونیک: saffari_m@kaums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۱/۹/۱۸ تاریخ پذیرش نهایی: ۹۱/۱۲/۲۳

www.SID.ir

Archive of SID

میزان مقاومت آنتی بیوتیکی *GBS* در بسیاری از کشورها رو به افزایش است [۱۴،۱۳]. واکسیناسیون مادران علیه *GBS* با هدف کاهش کلونیزاسیون و افزایش انتقال آنتی بادی ضد *GBS* از طریق جفت به جنین، جهت پیشگیری از عفونت‌های ناشی از *GBS* در اوایل کودکی مطرح شده است [۱۵،۱۳]. کپسول پلی‌ساکاریدی یک فاکتور ویرولانس عمده در *GBS* و هم‌چنین هدف اصلی برای آنتی‌بادی‌های کشنده می‌باشد [۱۵]. در دهه گذشته واکسن‌های چند ظرفیتی کنژوگه بر اساس پلی ساکارید کپسولی (CPS) تولید شده‌اند و مشخص شده است که تا حدود زیادی ایمنی بخش بوده و احتمال پیشگیری از بیماری‌های ناشی از *GBS* را از طریق واکسیناسیون مادری قبل از زایمان افزایش می‌دهند [۱۶،۱۵]. ۹ سروتایپ بر اساس پلی ساکارید کپسولی قابل شناسایی است (Ia, Ib و II-VIII) و سروتایپ IX که اخیرا پیشنهاد شده است [۱۸،۱۷،۱۵]. توزیع جهانی سروتایپ‌های *GBS* ممکن است با گذشت زمان و در مناطق جغرافیایی مختلف تغییر کند، به همین دلیل تولید واکسنی که به شکل جهانی قابل استفاده باشد میسر نیست [۱۷،۱۴]. بنابراین توجه به این نکته جهت تعیین ترکیب واکسن‌های چند ظرفیتی علیه سروتایپ‌های شایع در منطقه حائز اهمیت است [۱۶،۳]. در مطالعه‌ای که اخیرا درباره نحوه توزیع جغرافیایی GBS در جهان انجام شد، سروتایپ III شایع‌ترین تیپ در اروپا، آسیای مرکزی، آفریقا و استرالیا گزارش شد [۱۹]. اطلاعات محدودی در مورد اپیدمیولوژی سروتایپ‌های مرتبط با کلونیزاسیون رکتوواژینال مادری و بیماری‌های مهاجم در نوزادان، در کشورهای در حال توسعه وجود دارد [۲]. بنابراین با توجه به اهمیت چگونگی پراکنش سروتایپ‌های GBS جهت تعیین ترکیب واکسن علیه سروتایپ‌های شایع در منطقه، بر آن شدیم تا میزان فراوانی سروتایپ‌های کپسولی *استرپتوکوک* گروه B را به‌روش Multiplex PCR مورد مطالعه قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از آذر ۱۳۹۰ تا آبان ۱۳۹۱ به‌صورت مقطعی بر روی ۳۸۲ خانم باردار مراجعه‌کننده به دو بیمارستان شهید بهشتی و شبیه خوانی کاشان که در هفته ۳۷-۲۸ بارداری بودند انجام شد. روش نمونه‌گیری به‌صورت مبتنی بر هدف بود و حجم نمونه با توجه به شیوع ۳۰ درصدی باکتری محاسبه شد. پس از اخذ رضایت و تکمیل پرسشنامه نمونه‌گیری با سواپ استریل از ناحیه واژن انجام گرفت و سواپ‌ها در محیط انتخابی LIM (Todd Hewitt broth) حاوی ۱۰ میلی‌گرم در لیتر جنتامایسین و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر نالیدیکسیک اسید، جهت جلوگیری از رشد باکتری‌های گرم منفی) قرار داده شد و پس از انتقال به آزمایشگاه به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. سپس به‌وسیله سواپ استریل مقداری از این محیط در محیط بلاد آگار (Merck) حاوی ۵ درصد خون گوسفندی تلقیح و کشت داده شد و در جار حاوی ۵ درصد CO2 به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس، کوکسی‌های گرم مثبت، کاتالاز منفی و بتا همولیز از کشت بلاد آگار انتخاب شده و تست‌های اختصاصی شامل مقاومت به دیسک باسیتراسین، عدم هیدرولیز محیط بایل اسکولین (Merck)، هیدرولیز هیپورات سدیم و در نهایت تست Camp جهت شناسایی *GBS* انجام گردید. ایزوله‌های *GBS* شناسایی شده در محیط کشت TSB (Merck) حاوی ۱۰ درصد گلیسرول تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره شدند. نمونه‌های استرپتوکوک گروه B (GBS) ذخیره شده در ۲۰- درجه از فریز خارج شده و استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA (Fermentas) طبق دستورالعمل کارخانه سازنده انجام یافت.

واکنش زنجیره پلی‌مراز (PCR):

تعیین تیپ کپسولی به‌روش PCR برای شناسایی سروتایپ‌های Ia, Ib, II-VIII با استفاده از توالی‌های پرایمری گزارش شده توسط Poyart که در جدول شماره ۱ ذکر شده انجام شد [۱۸]. پرایمرها و مواد مورد نیاز جهت انجام Multiplex PCR از شرکت سینا کلون تهیه گردید. ژن کد کننده *dlts* به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. سپس، نمونه‌های مثبت به‌روش Multiplex PCR تعیین تیپ شدند. برای انجام Multiplex PCR دو مخلوط واکنش به‌صورت جداگانه که هر یک شامل ۵ جفت پرایمر بود با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر آماده شد. برای تهیه این محلول به ۶ میکرولیتر آب مقطردیونیزه، به‌ترتیب ۲/۵ میکرولیتر ۱۰X بافر، ۰/۷۵ میکرولیتر $Mgcl_2$ ۲۵ میلی‌مولار، ۰/۵ میکرولیتر dNTP ۲ میلی‌مولار، ۰/۲۵ میکرولیتر DNA Taq Polymerase، ۱۰ میکرولیتر از پرایمرهای مذکور (یک میکرولیتر از هر پرایمر) و ۵ میکرولیتر از هر نمونه DNA اضافه گردید. برنامه دمایی دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf) و شرایط انجام PCR طبق جدول شماره ۲ انجام شد [۱۲].

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده، ژن‌های هدف و اندازه آمپلیکون را نشان می‌دهد [۱۸].

نام پرایمر	سکانس(′3 - ′5)	ژن هدف	(bp)
Ia-F	GGTCAGACTGGATTAATGGTATGC	*cps1aH*	
Ia-R	GTAGAAATAGCCTATATACGTTGAATGC	*cps1aH*	521 and 1,826
Ib-F	TAAACGAGAATGGAATATCACAAACC	*cps1bJ*	
Ib-R	GAATTAACTTCAATCCCTAAACAATATCG	*cpsIbK*	770
II-F	GCTTCAGTAAGTATTGTAAGACGATAG	*cps2K*	
II-R	TTCTCTAGGAAATCAAATAATTCTATAGGG	*cps2K*	397
III-F[a]	TCCGTACTACAACAGACTCATCC	*cps1a/2/3I*	
III-R[a]	AGTAACCGTCCATACATTCTATAAGC	*cps1a/2/3J*	1,826
IV-F	GGTGGTAATCCTAAGAGTGAACTGT	*cps4N*	
IV-R	CCTCCCCAATTTCGTCCATAATGGT	*cps4N*	578
V-F	GAGGCCAATCAGTTGCACGTAA	*cps5O*	
V-R	AACCTTCTCCTTCACACTAATCCT	*cps5O*	701
VI-F	GGACTTGAGATGGCAGAAGGTGAA	*cps6I*	
VI-R	CTGTCGGACTATCCTGATGAATCTC	*cps6I*	487
VII-F	CCTGGAGAGAACAATGTCCAGAT	*cps7M*	
VII-R	GCTGGTCGTGATTTCTACACA	*cps7M*	371
VIII-F	AGGTCAACCACTATATAGCGA	*cps8J*	
VIII-R	TCTTCAAATTCCGCTGACTT	*cps8J*	282
dltS-F	AGGAATACCAGGCGATGAACCGAT	*dltS*	
dltS-R	TGCTCTAATTCTCCCCTTATGGC	*dltS*	952

جدول شماره ۲- شرایط انجام PCR را نشان می‌دهد.

مرحله	دما	زمان	تعداد چرخه
Hot start	۹٤° C	۳ دقیقه	۱
Denaturation	۹٤° C	٤٥ ثانیه	٤٠
Annealing	٥٤° C	٤٠ ثانیه	
Extention	۷۲° C	۳۰ ثانیه	
Final extention	۷۲° C	۱۰ دقیقه	۱

نتایج آماری با استفاده از نرم افزار SPSS محاسبه شد و سپس از آزمون مجذور کای جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. $P<۰/۰۵$ نیز به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج این مطالعه نشان داد از مجموع ۳۸۲ خانم باردار مورد بررسی ۳٦ نفر (۹/٤) با استفاده از تست‌های تشخیصی آزمایشگاهی حامل GBS شناخته شدند. میانگین و انحراف معیار سنی افراد مورد مطالعه ٥/٤٥±۲٥/۹ و از حداقل ۱٦ تا حداکثر ٤٥ سال بود. متغیرهای سن مادر، سن بارداری، سابقه سقط و تعداد زایمان در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفتند. در بین مادران زیر ۲۰ سال ۳/٤ درصد مبتلا و ۹٦/٦ درصد غیر مبتلا بودند. در سنین ٤۰-۲۰ سال ۱۰/۱ درصد مبتلا بودند و در سنین بالای ٤۰ سال هیچ یک از مادران مبتلا نبودند. از نظر سن بارداری مادران مورد مطالعه به ۳ دسته تقسیم شدند، که در گروه سه ماهه اول ٤ نفر (۱۱/۱ درصد)، در گروه سه ماهه دوم ۱ نفر (۲/٤ درصد) و در گروه سه ماهه سوم ۳۱ نفر (۱۰/۲ درصد) مبتلا بودند. ۱۱ نفر (۱۲/۲ درصد) از مادرانی که سابقه سقط داشتند مبتلا و ۷۹ نفر (۸۷/۸ درصد) غیر مبتلا بودند و ۸/٦ درصد از زنانی که سابقه سقط نداشتند، نیز حامل GBS بودند. در این مطالعه مطابق با نتایج آزمون مجذور کای ارتباطی بین سن مادر و سن بارداری با کلونیزاسیون واژینال GBS دیده نشد. هم‌چنین، مطابق با آزمون دقیق فیشر سابقه سقط نیز ارتباطی با کلونیزاسیون نداشت ($P>۰/۰۵$، جدول شماره ۳). از نظر تعداد زایمان (پاریتی) زنان مورد مطالعه به دو گروه زایمان اول و زایمان دوم یا بیشتر تقسیم شدند که در گروه اول (۱ پاریتی) ٦/٦ درصد مبتلا و در گروه دوم (۲ پاریتی و بیشتر) ۱۳ درصد با استرپتوکوک گروه B کلونیزه بودند. در این مطالعه مطابق با آزمون دقیق فیشر بین میزان کلونیزاسیون واژینال GBS و تعداد زایمان رابطه معنی‌داری به‌دست آمد ($P=۰/۰۳۲$) و مطابق جدول مادرانی که در گروه دوم بودند (۲ پاریتی و بیشتر) ۲/۱ برار گروه اول (۱ پاریتی) در واژن خود حامل GBS بودند. (OR=۲/۱ جدول شماره ۳).

www.SID.ir

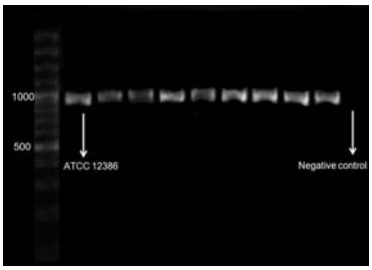
Archive of SID

جدول شماره ۳- توزیع مادران مورد بررسی بر حسب وجود GBS و به تفکیک عوامل مرتبط را نشان می دهد.

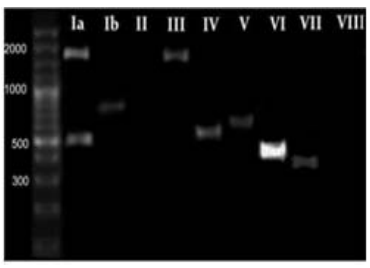
GBS عوامل مرتبط		دارد (n=۳۶)	ندارد (n=۳٤٦)	*P*	OR	CI
سابقه سقط جنین	دارد	(۱۲/۲٪)۱۱	(۸۷/۸٪)۷۹	۰/۲۹	۱/٤۸	۰/۷ ۳/۱۵
	ندارد	(۸/٦٪)۲۵	(۹۱/٤٪)۲٦۷			
تعداد زایمان	اول	(٦/٦٪)۱٤	(۹۳/٤٪)۱۹۹	۰/۰۳۲	۲/۱	۱/۰۵ ٤/۲
	دوم و بیشتر	(۱۳/۰٪)۲۲	(۸۷/۰٪)۱٤۷			
سن بارداری	سه ماهه اول	(۱۱/۱٪)٤	(۸۸/۹٪)۳۲	۰/۲٦	-	-
	سه ماهه دوم	(۲/٤٪)۱	(۹۷/٦٪)٤۱			
	سه ماهه سوم	(۱۰/۲٪)۳۱	(۸۹/۸٪)۲۷۳			
سن مادر	۲۰>	(۳/٤٪)۱	(۹٦/٦٪)۲۸	۰/۳	-	-
	۲۰-٤۰	(۱۰/۱٪)۳۵	(۸۹/۹٪)۳۱۰			
	٤۰<	(۰/۰٪)۰	(۱۰۰٪)۸			

نتایج PCR:

سروتایپ‌های (۳۲/۱٤ درصد) III، (۲۱/٤۳ درصد)V، (۱٤/۳ درصد)IV به‌ترتیب بالاترین فراوانی را داشتند و به‌دنبال آن (۱۰/۷ درصد) Ia، (۱۰/۷ درصد) VI، (۷/۱۳ درصد) Ib و (۳/٦ درصد) VII. تیپ‌های II و VIII در این مطالعه یافت نشد (شکل‌های شماره ۱ و ۲).



شکل شماره ۱- PCR اختصاصی استرپتوکوک گروه B (GBS) (dlts:952bp). ستون۱: سایز مارکر (Ladder) - ستون ۲: کنترل مثبت (سوش ATCC12386 استرپتوکوک آگالاکتیه) - ستون ۹-۳: نمونه‌های استرپتوکوک گروه B جدا شده از زنان باردار - ستون۱۰: کنترل منفی



شکل شماره ۲- Multiplex PCR جهت شناسایی تیپ‌های کپسولی GBS جدا شده از زنان باردار مورد مطالعه. ستون۱: سایز مارکر (Ladder)- ستون۹-۲: سروتایپ‌های استرپتوکوک گروه B جدا شده از زنان باردار (Ia, Ib, III-VII)

بحث

شیوع استرپتوکوک گروه B (GBS) در مناطق جغرافیایی مختلف متفاوت بوده و از ٤۰-۵ درصد متغیر است [۲۰]. در مطالعه حاضر ۳۸۲ خانم باردار مورد بررسی قرار گرفتند که ۳٦ نفر (۹/٤ درصد) از نظر کلونیزاسیون با GBS مثبت شناخته شدند. در این پژوهش رابطه معنی‌داری بین کلونیزاسیون واژینال GBS با سن مادر، سن بارداری و سابقه سقط دیده نشد، ولی با تعداد زایمان رابطه معنی‌داری به‌دست آمد. فراوانی سروتایپ‌های کپسولی GBS نیز به‌روش Multiplex PCR مورد بررسی قرار گرفت. در دو مطالعه جداگانه‌ای که در شهرهای خرم آباد (سال ۱۳۸۸) و اهواز (سال ۱۳۸٦) انجام شد، میزان کلونیزاسیون GBS به‌ترتیب ۱٤درصد و ۱۳/۲درصد گزارش شد [۲۲،۲۱]. در هر دو مطالعه نمونه‌های استرپتوکوک گروه B به‌روش کشت و تشخیص آزمایشگاهی جداسازی شدند. در مطالعه خرم آباد نمونه‌های استرپتوکوک از کشت واژینال و در پژوهش اهواز از کشت واژینال و رکتال جدا شدند. در این مطالعات رابطه معنی‌داری بین میزان کلونیزاسیون با سن مادر، سن بارداری و سابقه سقط دیده نشد که این نتایج با مطالعه ما هم‌خوانی دارد. در مطالعه خرم آباد همانند مطالعه ما بین کلونیزاسیون و تعداد زایمان رابطه معنی‌داری به‌دست آمد، ولی در مطالعه اهواز این ارتباط دیده نشد که با مطالعه ما ناسازگار است که می‌تواند به‌دلیل تفاوت در جمعیت مورد مطالعه و هم‌چنین جداسازی GBS از کشت رکتال علاوه بر کشت واژینال در مطالعه اهواز باشد. در پژوهش دیگری که در سال ۸٦-۱۳۸۵ در شهر تبریز انجام شد، ۲۵۰ خانم باردار سه ماهه سوم مورد بررسی قرار گرفتند که ۹/٦ درصد، به‌روش کشت و

www.SID.ir

Archive of SID

تشخیص آزمایشگاهی حامل GBS شناخته شدند. بین کلونیزاسیون با سن بارداری و وضعیت اقتصادی ارتباطی وجود نداشت، ولی بین سن مادر با میزان کلونیزاسیون رابطه معنی‌داری به‌دست آمد [۲۳]. در مطالعه حاضر درصد کلونیزاسیون در محدوده مطالعه تبریز بوده و تایید کننده آن می‌باشد، ولی در مطالعه ما بین سن مادر و کلونیزاسیون ارتباطی وجود نداشت که تفاوت در تعداد جمعیت و سن مادران مورد بررسی می‌تواند دلیل این ناسازگاری باشد. در مطالعه مشابهی که در سال ۲۰۱۰ در هلند انجام شد، ۵۲٤ زن باردار مورد بررسی قرار گرفتند که ۲۱ درصد حامل GBS شناخته شدند. نمونه‌های استرپتوکوک به‌روش کشت و از سوآپ‌های گرفته شده از ناحیه واژینال جداسازی شدند. میزان کلونیزاسیون با GBS رابطه معنی‌داری با سن مادر، سابقه زایمان زودرس، وضعیت اقتصادی و تعداد زایمان‌های قبلی وجود نداشت [۲٤]. تفاوت در میزان شیوع کلونیزاسیون به‌دلایل مختلفی مانند تفاوت در محل نمونه‌برداری، تفاوت در روش‌های تشخیصی، تفاوت آماری جوامع مورد مطالعه و اختلافات نژادی و جغرافیایی می‌باشد [۲۵]. توزیع جهانی سروتایپ‌های GBS نیز براساس موقعیت جغرافیایی، تفاوت‌های نژادی و زمان انجام مطالعه متفاوت است [۲٦]. شایع‌ترین سروتایپ‌ها دراین مطالعه به‌ترتیب III (۳۲/۱ درصد)، (۲۱/٤ درصد) V و (۱٤/۳ درصد) IV بودند. در مطالعه‌ای که اخیرا درباره نحوه توزیع جغرافیایی GBS در جهان انجام شد، سروتایپ III شایع ترین تیپ در اروپا، آسیای مرکزی، آفریقا و استرالیا گزارش شد [۱۹]. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۰ در مدیگان انجام شد، از ۱۱۲۹ نفر ۱۸/۳ درصد مبتلا و Ia (۲۹ درصد)، III (۲۷ درصد) و V (۱۷ درصد) به‌ترتیب شایع‌ترین سروتایپ‌ها بودند. تیپ‌های VII وVIII در این پژوهش یافت نشد [۲۷]. در سال ۲۰۱۰ در زیمباوه سروتایپ‌های (۳۸/۸ درصد) III، (۲٤ درصد) V و (۷/ ۱۵ درصد) Ia شایع‌ترین تیپ‌ها گزارش شدند [۲۸]. در مطالعه مشابهی که در مالزی انجام شد (۱۹ درصد) V، (۱۷ درصد) VI و (۱۲ درصد) III شایع‌ترین سروتایپ‌ها گزارش شدند [۲٦]. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۰ در کره انجام شد سروتایپ‌های (۲۹/۸ درصد) III و (۲۷/۷ درصد) V و (۱۷ درصد) Ia بالاترین فراوانی را داشتند [۲۸] در سال ۱۳۸۷ بررسی فراوانی سروتایپ‌های GBS در کرمان انجام شد، میزان کلونیزاسیون ۹/۱ درصد و شایع‌ترین تیپ‌ها به‌ترتیب III (٤۱/۸ درصد)، Ib (۲۵/٤ درصد) و II (۱٤/۵ درصد) بود، تیپ IV در این مطالعه یافت نشد [۲۹]. در مطالعه ما نیز سروتایپ III شایع‌ترین تیپ بود که تاییدکننده آن می‌باشد. در مطالعه‌ی کرمان سروتایپینگ با کیت آنتی سرم و برای تیپ‌های Ia-V انجام شد؛ بنابراین مستقیما قابل مقایسه با مطالعه حاضر نیست. در تبریز نیز در سال ۱۳۸٦، میزان شیوع GBS ۵/۲ درصد و شیوع سروتایپ‌ها به‌ترتیب V (۱۹/۵ درصد)، Ia (۱۷/٦ درصد)، II (۱٤/۲ درصد)، Ib (۱۳/٤ درصد)، III (۹/۵ درصد) و IV (۸/۲ درصد) بود. بر خلاف مطالعه ما سروتایپ III و IV شیوع پایینی داشتند. در این مطالعه نیز از کیت آنتی سرم جهت شناسایی تیپ‌های Ia-V استفاده شد [۳۰]. در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۸۹ در اردبیل انجام شد میزان کلونیزاسیون ۱۳/۳ درصد بود [۳۱]. توزیع سروتایپ‌ها با استفاده از آنتی سرم‌های اختصاصی تیپ‌های Ia-VIII بررسی شد که شیوع سروتایپ‌ها به این شکل بود: V (۱۹/٦ درصد)، II و IV (۱۲/۵ درصد)، III و VI (۱۰/۷ درصد)، Ib (۸/۹ درصد)، Ia (۷/۱ درصد)، VII و VIII (۵/۳ درصد). در این پژوهش تیپ III نسبت به مطالعه ما شیوع کمتری داشت. سروتایپ II از شیوع نسبتا بالایی برخوردار بود در حالی که در مطالعه حاضر این سروتایپ یافت نشد. در سه پژوهش گذشته که جهت تعیین توزیع سروتایپ‌های GBS در ایران انجام شد از تست آگلوتیناسیون با کیت آنتی سرم استفاده شد. در مطالعات اهواز و تبریز تنها تیپ‌های Ia-V مورد بررسی قرار گرفت. ما در این مطالعه از روش Multiplex PCR جهت تعیین فراوانی سروتایپ‌های Ia-VIII استفاده کردیم که نسبت به‌روش قبلی از حساسیت و اختصاصیت بالاتری برخوردار می‌باشد.

نتیجه‌گیری

اختلاف در توزیع سروتایپ‌ها در جمعیت‌ها و مناطق جغرافیایی مختلف می‌تواند منعکس‌کننده اختلاف در پاتوژنز در میان سروتایپ‌ها باشد. بنابراین، توجه به توزیع سروتایپ‌ها جهت تولید واکسن‌های بومی مناسب و کنترل کامل عفونت‌های ناشی از استرپتوکوک گروه B (GBS) حائز اهمیت می‌باشد. شایع‌ترین سروتایپ‌ها در این مطالعه III(۳۲/۱)، V(۲۱/٤)، IV(۱٤/۳) بودند که می‌توانند در پژوهش‌های آینده جهت ساخت واکسن‌های چند ظرفیتی ضد GBS مورد مطالعه قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد بوده که با مساعدت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان انجام شده است. بدین‌وسیله از معاونت مذکور، پرسنل محترم زایشگاه شبیه خوانی و بیمارستان شهید بهشتی کاشان، هم‌چنین، دانشجویان مامایی دانشگاه علوم پزشکی، خانم‌ها زهرا قربعلی، لیلا انصاری پور، مریم موحدی نژاد و مریم یادگار

www.SID.ir

Archive of SID

صالحی که ما را در اجرای ایـن مطالعـه یـاری کردنـد، تشـکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

References:

[1] Palmeiro JK, Dalla-Costa LM, Fracalanzza SE, Botelho AC, da Silva Nogueira K, Scheffer MC, et al. Phenotypic and genotypic characterization of group B streptococcal isolates in southern Brazil. ***J Clin Microbiol*** 2010; 48(12): 4397-03.

[2] Madzivhandila M, Adrian PV, Cutland CL, Kuwanda L, Schrag SJ, Madhi SA. Serotype distribution and invasive potential of group B streptococcus isolates causing disease in infants and colonizing maternal-newborn dyads. ***PLoS One*** 2011: 21; 6(3): e17861.

[3] Turner C, Turner P, Po L, Maner N, De Zoysa A, Afshar B, et al. Group B streptococcal carriage, serotype distribution and antibiotic susceptibilities in pregnant women at the time of delivery in a refugee population on the Thai-Myanmar border. ***BMC Infect Dis*** 2012; 12: 34.

[4] Huber CA, McOdimba F, Pflueger V, Daubenberger CA, Revathi G. Characterization of invasive and colonizing isolates of Streptococcus agalactiae in East African adults. ***J Clin Microbiol*** 2011; 49(10): 3652-5.

[5] Manning SD, Lewis MA, Springman AC, Lehotzky E, Whittam TS, Davies HD. Genotypic diversity and serotype distribution of group B streptococcus isolated from women before and after delivery. ***Clin Infect Dis*** 2008: 15; 46(12): 1829-37.

[6] Edward MS, Baker CJ. Streptococcus agalactia (Group B Streptococcus). in: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and Practice of Infection Diseases. 6th ed. Elsevier Churchill Livingstone; 2005; 2: 2425-7.

[7] Corrêa AB, Silva LG, Pinto Tde C, Oliveira IC, Fernandes FG, Costa NS, et al. The genetic diversity and phenotypic characterisation of Streptococcus agalactiae isolates from Rio de Janeiro, Brazil. ***Mem Inst Oswaldo Cruz*** 2011; 106(8): 1002-6.

[8] Castor ML, Whitney CG, Como-Sabetti K, Facklam RR, Ferrieri P, Bartkus JM, et al. Antibiotic resistance patterns in invasive group B streptococcal isolates. ***Infect Dis Obstet Gynecol*** 2008; 2008: 727505.

[9] Ulett KB, Benjamin WH Jr, Zhuo F, Xiao M, Kong F, Gilbert GL, et al. Diversity of group B streptococcus serotypes causing urinary tract infection in adults. ***J Clin Microbiol*** 2009; 47(7): 2055-60.

[10] Dhanoa A, Karunakaran R, Puthucheary SD. Serotype distribution and antibiotic susceptibility of group B streptococci in pregnant women. ***Epidemiol Infect*** 2010; 138(7): 979-81.

[11] Gotoff Sp. Group B streptococcus. In:Behiman RE(Ed). Nilson textbook of pediatsics. 16th ed. Phladelphia: Sawnders; 2000. p. 810-6.

[12] Murayama SY, Seki C, Sakata H, Sunaoshi K, Nakayama E, Iwata S, et al. Capsular type and antibiotic resistance in Streptococcus agalactiae isolates from patients, ranging from newborns to the elderly, with invasive infections. ***Antimicrob Agents Chemother*** 2009; 53(6): 2650-3.

[13] Martins ER, Andreu A, Correia P, Juncosa T, Bosch J, Ramirez M, et al. ***J Clin Microbiol*** 2011; 49(8): 2911-8.

[14] Seo YS, Srinivasan U, Oh KY, Shin JH, Chae JD, Kim MY, et al. Changing molecular epidemiology of group B streptococcus in Korea. ***J Korean Med Sci*** 2010; 25(6): 817-23.

[15] Martins ER, Melo-Cristino J, Ramirez M. Evidence for rare capsular switching in Streptococcus agalactiae. ***J Bacteriol*** 2010; 192(5): 1361-9.

[16] Harrison LH, Elliott JA, Dwyer DM, Libonati JP, Ferrieri P, Billmann L, et al. Serotype distribution of invasive group B streptococcal isolates in Maryland: implications for vaccine formulation. ***J Infect Dis*** 1998; 177(4): 998-1002.

[17] Karunakaran R, Raja NS, Hafeez A, Puthucheary SD. Group B Streptococcus infection: epidemiology, serotypes, and antimicrobial susceptibility of selected isolates in the population beyond infancy at the University Malaya Medical Centre, Kuala Lumpur. ***Jpn J Infect Dis*** 2009; 62(3): 192-4.

[18] Poyart C, Tazi A, Réglier-Poupet H, Billoët A, Tavares N, Raymond J, et al. Multiplex PCR assay for rapid and accurate capsular typing of group B streptococci. ***J Clin Microbiol*** 2007; 45(6): 1985-8.

[19] Ippolito DL, James WA, Tinnemore D, Huang RR, Dehart MJ, Williams J, et al. Group B streptococcus serotype prevalence in reproductive-age women at a tertiary care military medical center relative to global serotype distribution. ***BMC Infect Dis*** 2010 24; 10: 336.

[20] Mavenyengwa RT, Maeland JA, Moyo SR. Serotype markers in a Streptococcus agalactiae strain collection from Zimbabwe. ***Indian J Med Microbiol*** 2010; 28(4): 313-9

[21] Nazer MR, Alavi E Rafiei, Nazer E, Khamechi M. Prevalence of Group B Streptococcus Vaginal Colonization in The Third Trimester of Pregnancy. ***J Shahid Sadoughi Univ Med Sci*** 2011; 19(1): 13-23. [in Persian]

[22] Shahbazian N, Rajabzadeh AR, Alavi M. Prevalence of Group –BStreptococcal Colonization in Vagina and Rectum of 35-37 Weeks Pregnant Women and its Sensitivity to Antibiotics***. J Ahwaz Univ Med Sci*** 2007; 6(54): 294-8. [in Persian]

[23] Abdollahi Fard S, Ghotasloo R, Zafardoost S. Study on colonization of group B streptococcus and

www.SID.ir

Archive of SID

relationship with perinatal complication in pregnant women reffered to Alzahra hospital. ***J Biol Sci*** 2008; 7(3): 726-8. [in Persian]
[24] Valkenburg-van den Berg AW, Sprij AJ, Dekker FW, Dφrr PJ, Kanhai HH. Association between colonization with group B streptococcus and preterm delivery: a systematic review. ***Acta Obstet Gynecol Scand*** 2009; 88(9): 958-6
[25] Edward MS, Baker CJ. Streptococcus agalactia (Group B Streptococcus). in: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and Practice of Infection Diseases. 6th ed. Elsevier, Churchill Livingstone; 2005. p. 2425-7.
[26] Dhanoa A, Karunakaran R, Puthucheary SD. Serotype distribution and antibiotic susceptibility of group B streptococci in pregnant women. ***Epidemiol Infect*** 2010; 138(7): 979-81.
[27] Mavenyengwa RT, Maeland JA, Moyo SR. Serotype markers in a Streptococcus agalactiae strain collection from Zimbabwe. ***Indian J Med Microbiol*** 2010; 28(4): 313-9
[28] Seo YS, Srinivasan U, Oh KY, Shin JH, Chae JD, Kim MY, et al. Changing molecular epidemiology of group B streptococcus in Korea. ***J Korean Med Sci*** 2010; 25(6): 817-23.
[29] Mansouri S, Ghasami EN. Shahabi Najad Vaginal Colonization of Group B Streptococci during Late Pregnancy in Southeast of Iran: Incidence, Serotype Distribution and Susceptibility to Antibiotics**.** ***Science alert*** 2008; 8(6): 574-8.
[30] Nahaei MR, Ghandchilar N, Bilan N, Ghahramani P. Maternal carriage and neonatal colonization of Streptococcus agalactiae in Tabriz, Northwest Iran. ***Iran J Med Sci*** 2007; 32: 177-81.
[31] Jannati E, Roshani M, Arzanlou M, Habibzadeh S, Rahimi G, Shapuri R. Capsular serotype and antibiotic resistance of group B streptococci isolated from pregnant women in Ardabil, Iran. ***Iran J Microbiol*** 2012; 4(3): 130-5.

www.SID.ir