

بررسی صحت تشخیص مولکولی کلونیزاسیون زنان باردار با

استرپتوکوک گروه B به دنبال کشت غنی کننده باکتری

دکتر سودابه رستمی^۱، مرضیه رحیم خراسانی^۲، میترا احمدی^۳، دکتر الهام نقشینه^{۴*}،
محبوبه زمان پور^۳

۱. دکترای تخصصی باکتری‌شناسی، مرکز تحقیقات عفونت‌های بیمارستانی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
۲. کارشناس ارشد میکروبی‌شناسی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
۳. کارشناس پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
۴. استادیار گروه زنان و مامایی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۰۷

خلاصه

مقدمه: کلونیزاسیون زنان باردار با استرپتوکوک گروه B، علاوه بر ایجاد عفونت در مادر می‌تواند خطر زایمان زودرس و انتقال باکتری در حین زایمان به نوزاد را افزایش دهد و این مسئله می‌تواند باعث ایجاد سپسیس و مننژیت نوزادی در ۶ هفته اول زندگی شود، لذا مطالعه حاضر با هدف تشخیص کلونیزاسیون زنان باردار مراجعه کننده به دو بیمارستان شهر اصفهان با باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه به وسیله روش PCR، ۴ و ۲۴ ساعت بعد از کشت غنی کننده و مقایسه آن با نتایج تشخیص فنوتیپی انجام شد.

روش کار: این مطالعه توصیفی بر روی ۲۰۰ زن باردار در هفته ۳۷-۳۵ بارداری که در طی یک دوره یک‌ساله (فروردین تا اسفند ماه ۱۳۹۴) جهت معاینات ماهیانه به بیمارستان شهید بهشتی شهر اصفهان مراجعه کرده بودند، انجام شد. نمونه‌گیری از دو ناحیه واژن (یک سوم انتهایی) و رکتوم به وسیله سواب استریل و به‌طور جداگانه صورت گرفت. نمونه‌های تهیه شده به محیط کشت غنی کننده منتقل و پس از گذشت ۴ و ۲۴ ساعت از گرمخانه‌گذاری PCR انجام شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، محیط‌های کشت توسط روش‌های فنوتیپی نیز مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین حساسیت و اختصاصیت روش مولکولی استفاده شده محاسبه گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۹) و آزمون رگرسیون لجستیک انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: از ۲۰۰ زن باردار مورد بررسی، ۲۲ نفر (۱۱٪) به وسیله روش فنوتیپی کلونیزه تشخیص داده شدند و ۲۷ نفر (۱۳/۵٪) به وسیله روش PCR بعد از ۴ و ۲۴ ساعت کلونیزه بودند و هیچ تفاوتی بین نتایج مشاهده نشد. بر اساس نتایج آزمون‌های آماری، روش مولکولی بعد از زمان‌های ذکر شده دارای حساسیت ۱۰۰٪ و اختصاصیت ۹۷٪ و ۹۵٪ به ترتیب برای نمونه‌های واژینال و رکتال بود.

نتیجه‌گیری: استفاده از روش مولکولی PCR، ۴ ساعت پس از کشت غنی‌کننده می‌تواند علاوه بر اینکه سرعت تشخیص کلونیزاسیون زنان باردار با استرپتوکوکوس آگالاکتیه را افزایش دهد، می‌تواند این امکان را فراهم کند که تست‌های حساسیت آنتی‌بیوتیکی نیز بعد از رشد باکتری انجام شود و در صورت نیاز، پیشگیری دارویی و یا درمان مناسب انجام شود.

کلمات کلیدی: استرپتوکوکوس آگالاکتیه، تشخیص مولکولی، کلونیزاسیون

* نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر الهام نقشینه؛ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران. تلفن: ۰۳۱-۲۳۶۷۰۰۱؛ پست الکترونیک:

naghshineh@med.mui.ac.ir

زنان باردار، غیرهمولیتیک می‌باشند و ممکن است در کشت‌های مجددی که برای شناسایی باکتری انجام می‌شود، این باکتری‌های استرپتوکوک گروه B در نظر گرفته نشده و جواب منفی کاذب به‌دست آید (۳)، لذا انجام PCR بعد از مرحله کشت غنی‌کننده، می‌تواند سویه‌های غیرهمولیتیک را نیز شناسایی کند.

با توجه به اهمیت موضوع و با توجه به اینکه سرعت تشخیص این باکتری در زنان باردار می‌تواند در مدیریت مراحل زایمان این افراد کمک کننده باشد، مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان تشخیص کلونیزاسیون زنان باردار مراجعه کننده به بیمارستان‌های شهید بهشتی و الزهراء (س) شهر اصفهان با/استرپتوکوکوس آگالاکتیه به وسیله روش کشت میکروبی و PCR، ۴ و ۲۴ ساعت بعد از مرحله غنی‌سازی و مقایسه حساسیت و اختصاصیت روش مولکولی به‌کار رفته در مقایسه با کشت در زمان‌های ۴ ساعت و ۲۴ ساعت بعد از انکوباسیون محیط کشت مایع غنی کننده انجام شد.

روش کار

این مطالعه توصیفی بر روی ۲۰۰ زن باردار در هفته ۳۵-۳۷ بارداری که در طی یک دوره یک‌ساله (فرودین تا اسفند ماه ۱۳۹۴) جهت معاینات ماهیانه به بیمارستان شهید بهشتی شهر اصفهان مراجعه کرده بودند، انجام شد. روش نمونه‌گیری به صورت غیرتصادفی آسان بود. معیارهای خروج از مطالعه شامل: افرادی که در ۴ هفته قبل از نمونه‌گیری آنتی‌بیوتیک مصرف کرده بودند، افرادی که در ۱۰ روز قبل از نمونه‌گیری از استریل کننده‌های سنتی مانند سرکه در ناحیه واژن استفاده کرده بودند، افراد مبتلا به بیماری‌های حاد نظیر دیابت و افرادی که دارای شرایط شناخته شده و یا مشکوکی بودند که معاینه واژینال در آنها منع شده بود. همچنین چک لیستی طراحی گردید که اطلاعات مربوط به سن، تعداد زایمان‌های قبلی، سابقه عفونت ادراری در طی دوره بارداری و میزان تحصیلات زنان باردار در آن جمع‌آوری گردید. پس از کسب رضایت از زنان باردار، نمونه‌گیری از دو ناحیه واژن (یک سوم انتهایی) و رکتوم به‌وسیله سواب استریل و به‌طور جداگانه صورت گرفت. دو سواب به‌دست آمده (یکی از ناحیه واژن و دیگری از

مقدمه

استرپتوکوکوس آگالاکتیه^۱ که به استرپتوکوک گروه B (GBS)^۲ نیز معروف است، دستگاه گوارش و دستگاه تناسلی افراد سالم را بدون ایجاد علائمی از بیماری کلونیزه می‌کند (۱). زنان کلونیزه با این باکتری در دوران بارداری و یا بعد از آن معمولاً بی‌علامت هستند، ولی ممکن است این باکتری در زنان باردار باعث باکتری‌می، عفونت‌های دستگاه ادراری، کوریوآمنیوتیت، اندومتريت، سپسیس پورپورال و گاهاً مننژیت و ترومبوفلیت سپتیک شود (۲). کلونیزاسیون زنان باردار با GBS همچنین خطر زایمان زودرس و انتقال باکتری در حین زایمان به نوزاد را افزایش می‌دهد که این مسئله می‌تواند باعث ایجاد سپسیس و مننژیت نوزادی در ۶ هفته اول زندگی شود (۳، ۴). تقریباً ۳۰-۱۰٪ زنان باردار در ناحیه واژن، رکتوم و یا هر دو ناحیه با GBS کلونیزه می‌باشند (۵). مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌های آمریکا (CDC)^۳ پیشنهاد کرده است که تمامی زنان باردار در هفته‌های ۳۷-۳۵ بارداری از نظر کلونیزاسیون رکتوواژینال با GBS بررسی غربالگری شوند تا در صورت کلونیزه بودن، درمان پیشگیرانه آنتی‌بیوتیکی در زمان زایمان را دریافت کنند. در صورت انجام موفقیت‌آمیز درمان پیشگیرانه، میزان بروز بیماری‌های GBS بین ۸۹-۸۶٪ کاهش خواهد یافت (۳، ۶).

بر طبق پیشنهاد اخیر CDC جهت جداسازی GBS از نمونه‌های واژینال، رکتال و رکتوواژینال از محیط‌های کشت مایع غنی شده و به‌دنبال آن کشت مجدد بر روی بلاد آگار یا یک محیط انتخابی استفاده می‌شود (۳). ولی از آنجایی که به‌دست آوردن باکتری از محیط‌های کشت مایع غنی شده یا انتخابی منوط به کشت مجدد باکتری بر روی بلاد آگار و تست‌های تشخیصی بعدی می‌باشد و این روند به ۲-۳ روز زمان نیاز دارد، استفاده از روش‌های مولکولی همچون PCR^۴ بعد از مرحله غنی‌سازی، می‌تواند سرعت و دقت جداسازی باکتری را افزایش دهد (۷، ۸). از طرف دیگر حدود ۴٪ از GBS جدا شده از

¹ Streptococcus agalactiae

² Group B streptococcus

³ Centers for Disease Control and Prevention

⁴ Polymerase chain reaction

شرکت یکتا تجهیز آزما (تهران، ایران) استفاده شد. مراحل استخراج DNA بر طبق روش ارائه شده توسط شرکت سازنده انجام شد.

برای انجام PCR از تکثیر یک قطعه اختصاصی از ژن (*cfb*) که کد کننده فاکتور CAMP می‌باشد، استفاده شد (۱۱). پرایمر اختصاصی این ژن، قطعه‌ای به طول ۱۵۴ جفت باز را تکثیر می‌کند. توالی پرایمرهای استفاده شده در این مطالعه به شرح زیر است: توالی پرایمر Forward شامل:

Primer F: 5'-TTTCACCAGCTGTATTAGAAGTA-3'
 و توالی پرایمر Reverse شامل: 3'-GTTCCCTGAACATTATCTTTGAT-3'
 می‌باشد. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر و با استفاده از دستگاه ترموسایکلر T100™ Thermal Cycler ساخت شرکت Bio-Rad کشور آمریکا انجام شد. غلظت مواد در واکنش PCR شامل: بافر PCR (10 mM Tris-HCl [pH 9.0], 50 mM KCl) معادل 1X، MgCl₂ معادل ۱/۵ میلی‌مولار، از دزوکسی ریبونوکلوئوتید تری فسفات‌ها (dNTPs) معادل ۲۰۰ میکرومولار، Taq DNA-polymerase معادل ۵ واحد (تمامی این مواد از شرکت سینا کلون تهران، ایران تهیه شد)، پرایمرهای اختصاصی معادل ۰/۴ میکرومولار (توسط شرکت Bioneer کشور کره ساخته شد) و ۵۰ نانوگرم DNA استخراج شده از محیط کشت غنی کننده بود. برنامه‌ای که به دستگاه ترموسایکلر جهت انجام واکنش داده شد به این صورت بود که: داناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، سپس ۳۵ سیکل: داناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، آنلینگ در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و در انتها گسترش نهایی محصولات در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه. تولیدات حاصل از واکنش PCR به وسیله ژل آگاروز ۲٪ حاوی اتیدیوم بروماید (۰/۵ ماکروگرم/ میلی‌لیتر) و با استفاده از دستگاه الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفتند. به‌عنوان کنترل مثبت از DNA *Streptococcus agalactiae* ژنومی

ناحیه رکتوم) به‌طور جداگانه در داخل محیط ترانسپورت ایمز (Amies) بدون شارکول قرار داده شده و در طی حداکثر ۴ ساعت به آزمایشگاه باکتری‌شناسی مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری منتقل شد. در صورت تأخیر در ارسال، نمونه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد حداکثر تا ۲۴ ساعت نگهداری گردید.

جداسازی باکتری به وسیله روش فنوتیپی:

پس از انتقال نمونه به آزمایشگاه، نمونه‌ها جهت انجام کشت میکروبی به محیط کشت مایع انتخابی و غنی کننده Trans-Vag که شامل محیط کشت Todd Hewitt Broth حاوی ۸ میکروگرم در میلی‌لیتر جنتامایسین و ۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر نالیدیکسیک اسید می‌باشد، منتقل شدند (۹). سپس به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردیدند. پس از طی ۴ ساعت، از هر کدام از لوله‌ها مقدار ۵۰۰ میکرولیتر محیط کشت برداشت شده و DNA ژنومی باکتری‌های رشد کرده احتمالی استخراج شد. محیط‌های کشت مجدداً در گرمخانه قرار داده شده و به مدت ۲۰-۱۸ ساعت دیگر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس نمونه‌های غنی شده بر روی محیط کشت‌های خوندار (بلاد آگار حاوی ۵٪ خون دفیبرینه گوسفند) کشت مجدد گردیدند و بعد از ۲۴ ساعت کلنی‌هایی که روی پلیت رشد کردند، با استفاده از تست‌های فنوتیپی رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز، تست CAMP و هیدرولیز هیپورات سدیم مورد بررسی قرار گرفتند. در صورتی که باکتری کوکسی گرم مثبت و کاتالاز منفی بوده و دارای تست CAMP و تست هیدرولیز هیپورات سدیم مثبت بود، باکتری استرپتوکوک آگالاکتیه قلمداد می‌شد (۱۰). از تمامی محیط‌های کشت غنی کننده Trans-Vag که ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شده بودند، مجدداً ۵۰۰ میکرولیتر برداشت شده و DNA ژنومی باکتری‌های رشد کرده احتمالی استخراج گردید.

استخراج DNA و شناسایی باکتری به‌وسیله روش مولکولی:

جهت استخراج DNA از کیت YTA Genomic DNA Extraction Mini Kit خریداری شده از

نمونه‌گیری، نمونه‌ها در محیط کشت غنی کننده کشت داده شدند. همچنین بعد از طی ۴ و ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری محیط‌های کشت غنی کننده، محیط‌ها تحت بررسی مولکولی قرار گرفتند. از ۲۰۰ نمونه واژینال و رکتال که به‌طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفتند، تعداد ۲۲ باکتری (۱۱٪) استرپتوکوک گروه B از نمونه‌های واژینال و ۷ باکتری (۳/۵٪) از نمونه‌های رکتال به روش کشت جداسازی شدند که ۷ نمونه (۳/۵٪) رکتال همزمان با نمونه واژینال مثبت بود. پس از انجام روش PCR که بر روی DNAهای استخراج شده از محیط کشت غنی کننده انجام شد، ۲۷ نمونه (۱۳/۵٪) واژینال و ۱۶ نمونه (۸٪) رکتال بعد از ۴ و ۲۴ ساعت مثبت شدند و هیچ تفاوتی با یکدیگر نداشتند. مقایسه آماری روش PCR بر روی DNA استخراج شده از محیط کشت غنی کننده در دو مرحله و کشت به عنوان استاندارد طلایی در جدول ۱ ارائه شده است. همچنین ارتباط عوامل مرتبط میزبان با کلونیزاسیون در جدول ۲ نشان داده شده است. هیچ کدام از عوامل شامل میانگین سن ($p=0/542$)، تعداد بارداری‌های قبلی ($p=0/461$)، سابقه سقط جنین ($p=0/983$)، سابقه عفونت ادراری در طی دوره بارداری ($p=0/355$) و سطح تحصیلات ($p=0/089$) ارتباط معنی‌داری با کلونیزاسیون زنان باردار با باکتری مورد نظر نشان ندادند.

ATCC 49619 و به عنوان کنترل منفی، از آب مقطر در واکنش‌ها استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۹) انجام شد. جهت بررسی ارتباط عوامل مرتبط با کلونیزاسیون از آزمون آماری رگرسیون لجستیک بایناری و جهت بررسی حساسیت، اختصاصیت، ارزش اخباری مثبت، ارزش اخباری منفی و همچنین کارایی و شیوع کلونیزاسیون از فرمول‌های مربوطه استفاده شد و روش کشت به عنوان استاندارد طلایی در این فرمول‌ها در نظر گرفته شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه ۲۰۰ زن باردار که در هفته‌های ۳۷-۳۵ بارداری بودند، وارد مطالعه شدند و از نظر کلونیزاسیون ناحیه واژن و رکتوم با باکتری استرپتوکوک گروه B به دو روش فنوتیپی و مولکولی مورد ارزیابی قرار گرفتند. میانگین سنی واحدهای پژوهش $29/35 \pm 5/09$ سال بود. ۷۶ نفر (۳۸٪) از زنان باردار اولین بارداری و ۱۲۴ نفر (۶۲٪) دیگر بارداری دوم و یا بیشتر خود را تجربه می‌کردند. ۴۸ نفر (۲۴٪) از زنان سابقه سقط جنین را عنوان کردند و ۱۰۶ نفر (۵۳٪) در طی بارداری مبتلا به عفونت ادراری شده بودند. ۷۰ نفر (۳۵٪) از واحدهای پژوهش تحصیلات ابتدایی، ۱۰۶ نفر (۵۳٪) متوسطه و ۲۴ نفر (۱۲٪) تحصیلات دانشگاهی داشتند. پس از

جدول ۱- مقایسه آماری روش PCR بر روی DNA استخراج شده از محیط کشت غنی کننده در دو مرحله و کشت به عنوان

استاندارد طلایی

نوع نمونه	آزمون‌های آماری	حساسیت (درصد)	اختصاصیت (درصد)	ارزش اخباری مثبت (درصد)	ارزش اخباری منفی (درصد)	کارایی (درصد)	شیوع (درصد)	ضریب توافق کاپا
نمونه‌های واژینال	۱۰۰	۹۷	۸۱	۱۰۰	۹۷/۵	۱۱	۰/۸۸	
نمونه‌های رکتال	۱۰۰	۹۵	۴۴	۱۰۰	۹۵/۵	۳/۵	۰/۶	

جدول ۲- ارتباط عوامل مرتبط میزبان با وضعیت کلونیزاسیون زنان باردار با باکتری استرپتوکوک گروه B

عوامل مرتبط	افراد کلونیزه	افراد غیر کلونیزه	سطح معنی داری	نسبت شانس	فاصله اطمینان %۹۵
میانگین سن	۲۷/۷ ± ۵/۲۷۲	۲۹/۵۳ ± ۵/۵۳۳	۰/۵۴۲	۱/۰۵۰	۰/۸۹۸-۱/۲۲۸
تعداد بارداری‌های قبلی	۸ ۱۲	۶۸ ۱۱۲	۰/۴۶۱	۱/۸۵۳	۰/۳۵۹-۹/۵۵۷
سابقه سقط جنین	دارد ندارد	۴ ۱۳۶	۰/۹۸۳	۰/۹۸۱	۰/۱۶۵-۵/۸۱۹
سابقه عفونت ادراری در طی دوره بارداری	دارد ندارد	۹۴ ۸۶	۰/۳۵۵	۰/۴۶۹	۰/۰۹۴-۲/۳۳۲
سطح تحصيلات	پایه متوسط بالا	۶۸ ۹۲ ۲۰	۰/۰۸۹	۱۱/۸۲۳	۰/۱۶۸۳-۲۰۴/۵۴۸

بحث

بررسی کلونیزاسیون زنان با باکتری GBS در طول بارداری به علت اینکه می‌تواند باعث بیماری‌های خطرناکی در نوزادان شود، توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده است. متأسفانه در کشور ایران هیچ‌گونه دستورالعمل واحد و یکسانی جهت غربالگری زنان باردار کلونیزه با GBS در دسترس نمی‌باشد و این بررسی به صورت معمول انجام نمی‌شود. طبق پیشنهاد مرکز کنترل و پیشگیری آمریکا، جهت جلوگیری از ابتلای زود هنگام نوزادان به عفونت‌های ناشی از GBS، غربالگری تمامی زنان باردار در هفته ۳۵-۳۷ بارداری با استفاده از کشت توصیه شده است. از طرفی بر اساس مطالعات منتشر شده قبلی ثابت شده است انجام مستقیم تست‌های مولکولی تجاری بر روی نمونه‌ها حساسیت (۹۸/۵-۶۲/۵)٪ و اختصاصیت (۹۹/۶-۶۴/۵)٪ متفاوتی در مقایسه با استاندارد طلایی کشت مجدد به دنبال کشت غنی کننده داشته‌اند. در چندین مطالعه بیان شده است که حساسیت تست‌های مولکولی با استفاده از یک مرحله غنی‌سازی رشد باکتری، قبل از انجام تست افزایش می‌یابد (۳). در مطالعه حاضر استخراج DNA به منظور انجام تست مولکولی PCR بعد از گذشت ۴ و ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری محیط کشت غنی کننده انجام شد و در مورد نمونه‌های واژینال و رکتال بعد از گذشت ۴ و ۲۴ ساعت، دارای حساسیت ۱۰۰٪ و به ترتیب اختصاصیت ۹۷٪ و ۹۵٪ بود و ارتباط

خوبی با نتایج کشت نشان داد. استفاده از روش‌های تشخیصی مولکولی بعد از مرحله کشت در محیط غنی کننده، در سایر مطالعات نیز استفاده شده است. در مطالعه رابان و همکاران (۲۰۱۷)، روش مولکولی استفاده شده بعد از کشت در محیط غنی کننده حساسیت ۱۰۰٪ و اختصاصیت ۸۹/۴٪ را نشان داده بود و ضریب توافق تست مولکولی با روش کشت مجدد برابر با ۹۲٪ ذکر شده است که ضریب بالایی می‌باشد (۱۲). در مطالعه حاضر نیز حساسیت و اختصاصیت روش مولکولی قابل مقایسه با مطالعه رابان بود و با وجود اینکه ضریب توافق به دست آمده برای نمونه‌های واژینال و رکتال متفاوت می‌باشد، ولی در مورد هر دو نمونه ضریب قابل قبولی به دست آمده است. در مطالعه گوردیچ و همکاران (۲۰۰۷) که بر روی نمونه‌های رکتوواژینال انجام شد، از دو روش مولکولی به دنبال کشت غنی کننده بعد از ۴ ساعت استفاده گردید و اختصاصیت و حساسیت این روش‌ها با کشت مقایسه شدند. نتایج مطالعه مذکور نشان داد که استفاده از روش‌های مولکولی بعد از کشت غنی کننده، نتیجه بهتری نسبت به استفاده از روش‌های مولکولی مستقیم داشته و نسبت به روش کشت نیز از حساسیت و اختصاصیت بالایی برخوردار هستند (حساسیت ۱۰۰٪ و ۹۲/۵٪، اختصاصیت ۹۵/۹٪ و ۹۲/۵٪). همچنین گزارش شد که بهتر است روش PCR به عنوان استاندارد طلایی در تشخیص در نظر گرفته شود (۸). مطالعه موسوی و همکاران (۲۰۱۶)

کشت غنی کننده از اختصاصیت و حساسیت بالاتری برخوردار بوده و بهتر است این روش در بررسی کلونیزاسیون زنان باردار با GBS در نظر گرفته شود. از نظر تداخل منافع: این مطالعه هیچ‌گونه تداخل منافی با هیچ ارگان، شرکت، دانشگاه و ... نداشت.

نتیجه‌گیری

روش‌های تشخیصی مولکولی مانند PCR به‌دنبال کشت غنی کننده در بررسی کلونیزاسیون زنان باردار با GBS می‌تواند مؤثر و کمک کننده باشد و به‌طور کلی بررسی زنان باردار از نظر کلونیزاسیون با GBS توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه به صورت طرح تحقیقاتی با شماره ۲۹۳۲۶۳ به تصویب مرکز تحقیقاتی عفونت‌های بیمارستانی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان رسیده و حمایت مالی این تحقیق توسط معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان صورت گرفته است. بدین‌وسیله از پشتیبانی و حمایت همه جانبه معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، مرکز تحقیقات عفونت‌های بیمارستانی، بیمارستان شهید بهشتی و مرکز آموزشی درمانی الزهراء (س) تشکر و قدردانی می‌شود.

نشان داد که ترکیب روش‌های مولکولی و کشت می‌تواند در تشخیص کلونیزاسیون زنان باردار کمک کننده باشد (۱۳). در مطالعه لندس و همکار (۲۰۰۵)، استخراج DNA جهت انجام روش مولکولی PCR بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری کشت غنی کننده صورت گرفت و حساسیت و اختصاصیت بالایی برای روش مولکولی گزارش شد (۱۴). در مطالعه حاضر مشابه با مطالعه گودریچ و همکار (۲۰۰۷) (۸) بررسی مولکولی محیط کشت غنی کننده با استفاده از روش PCR جهت تأیید حضور باکتری، علاوه بر گذشت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری، پس از گذشت ۴ ساعت نیز انجام شد و نتایج حاصل مشابه بود، لذا می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از ۴ ساعت گرمخانه‌گذاری می‌تواند در کاهش زمان دستیابی به نتیجه مؤثر باشد. با اینکه استفاده از محیط کشت غنی کننده نسبت به انجام روش PCR به صورت مستقیم بر روی نمونه روش وقت‌گیرتری می‌باشد، با این وجود این امکان را مهیا می‌کند که باکتری برای انجام تست بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی و تعیین تایپ‌های مختلف باکتری در دسترس باشد (۸). با توجه به نتایج به‌دست آمده و توصیه‌های سازمان‌های معتبر و همچنین با توجه به شیوع متغیر کلونیزاسیون زنان باردار در نقاط مختلف کشور ایران (۱۵) می‌توان نتیجه گرفت که روش‌های تشخیصی مولکولی مانند PCR به‌دنبال

منابع

- McCord N, Owen P, Powls A, Lunan B. A complete audit cycle of intrapartum group B *Streptococcus* prophylaxis. Health Bull (Edinb) 2001; 59(4):263-7.
- Phares CR, Lynfield R, Farley MM, Mohle-Boetani J, Harrison LH, Petit S, et al. Epidemiology of invasive group B *Streptococcal* disease in the United States, 1999-2005. JAMA 2008; 299(17):2056-65.
- Verani JR, Schrag SJ. Group B *Streptococcal* disease in infants: progress in prevention and continued challenges. Clin Perinatol 2010; 37(2):375-92.
- Brigtsen AK, Dedi L, Melby KK, Holberg-Petersen M, Radtke A, Lyng RV, et al. Comparison of PCR and serotyping of Group B *Streptococcus* in pregnant women: the Oslo GBS-study. J Microbiol Methods 2015; 108:31-5.
- Picard FJ, Bergeron MG. Laboratory detection of group B *Streptococcus* for prevention of perinatal disease. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2004; 23(9):665-71.
- Brozanski BS, Jones JG, Krohn MA, Sweet RL. Effect of a screening-based prevention policy on prevalence of early-onset group B *Streptococcal* sepsis. Obstet Gynecol 2000; 95(4):496-501.
- El Aila NA, Tency I, Claeys G, Verstraelen H, Deschaght P, Decat E, et al. Comparison of culture with two different qPCR assays for detection of rectovaginal carriage of *Streptococcus agalactiae* (group B *Streptococci*) in pregnant women. Res Microbiol 2011; 162(5):499-505.
- Goodrich JS, Miller MB. Comparison of culture and 2 real-time polymerase chain reaction assays to detect group B *Streptococcus* during antepartum screening. Diagn Microbiol Infect Dis 2007; 59(1):17-22.

9. Kwatra G, Madhi SA, Cutland CL, Buchmann EJ, Adrian PV. Evaluation of Trans-Vag broth, colistin-nalidixic agar, and CHROMagar StrepB for detection of group B *Streptococcus* in vaginal and rectal swabs from pregnant women in South Africa. *J Clin Microbiol* 2013; 51(8):2515-9.
10. Winn WC, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, et al. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. P. 709-18.
11. 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.
12. Rabaan AA, Saunar JV, Bazzi AM, Soriano JL. Modified use of real-time PCR detection of group B *Streptococcus* in pregnancy. *J Med Microbiol* 2017; 66(10):1516-20.
13. Mousavi SM, Hosseini SM, Mashouf RY, Arabestani MR. Identification of group B *Streptococci* using 16S rRNA, cfb, scpB, and atr genes in pregnant women by PCR. *Acta Med Iran* 2016; 54(12):765-70.
14. Landes A, Stellrecht K. Enhanced detection of group B *Streptococcus* with Real-Time PCR and lim broth enrichment. *J Mol Diagn* 2005; 7(5):67.
15. Yousefi Avarvand A, Khademi F, Ghazvini K, Nakhzari Moghadam M, Meshkat Z. Colonization rate of *Streptococcus agalactiae* in pregnant women in Iran: a systematic review. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2017; 19(40):45-54. (Persian).

