

مشخصات مولکولی استرپتوکوکوس آگالاکتیه جدا شده از نمونه‌های ادرار افراد مراجعه‌کننده به مراکز درمانی شهر یزد

سید علی فاتحی فضلی^۱، مریم ساده^۲، محمود و کیلی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: استرپتوکوکوس آگالاکتیه [استرپتوکوکوس گروه B (Group B Streptococcus) یا GBS]] به طور معمول در واژن، رکتوم و مجاری ادراری زنان باردار و بالغین غیر باردار وجود دارد. این باکتری علاوه بر عفونت‌های نوزادی، سبب ایجاد بیماری‌های تهجمی از جمله عفونت‌های ادراری در زنان باردار و افراد بالغ غیر باردار می‌شود. آنتی‌بیوتیک انتخابی در درمان عفونت‌های GBS، پنی‌سیلین و ماکرولیدها می‌باشد، اما شیوع سویه‌های مقاوم رو به افزایش است. از طرف دیگر، توزیع سروتیپ‌های کپسولی باکتری، بسته به زمان، مکان و نوع نمونه متغیر می‌باشد و تعیین شایع‌ترین نوع تیپ کپسولی در تهیه‌ی واکسن مناسب، لازم است. پژوهش حاضر با هدف بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و سروتیپ‌های کپسولی در GBS جدا شده از نمونه‌های ادرار افراد مراجعه‌کننده به مراکز درمانی شهر یزد انجام شد.

روش‌ها: این مطالعه‌ی توصیفی مقطعی، از ۶۰۶۸ نمونه‌ی کشت مثبت ادرار، ۸۵ ایزوله‌ی باکتری GBS جهت بررسی فنوتیپی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی با روش Kirby-Bauer انجام گرفت. همچنین، سروتیپ‌های کپسولی ایزوله‌ها با استفاده از روش Multiplex polymerase chain reaction (Multiplex PCR) تعیین شد.

یافته‌ها: فراوانی GBS در نمونه‌های ادراری، ۱/۴ درصد بود. بیشترین و کمترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی به ترتیب نسبت به تتراسیکلین (۹۷/۶ درصد) و پنی‌سیلین (۰ درصد) بود. سروتیپ غالب کپسولی، III (۵۰/۶ درصد) و سپس سروتیپ‌های Ib (۱۴/۱ درصد)، V (۱۲/۹ درصد)، IV (۷/۱ درصد) و II (۵/۹ درصد) بود. ۹/۴ درصد ایزوله‌ها غیر قابل تیپ‌بندی بودند.

نتیجه‌گیری: شیوع GBS در نمونه‌های ادراری، پایین و سروتیپ III غالب بود. مقاومت به ماکرولیدها در ایزوله‌های GBS ادراری رو به افزایش می‌باشد.

واژگان کلیدی: استرپتوکوکوس آگالاکتیه؛ عفونت دستگاه ادراری؛ سروتایپینگ؛ مقاومت آنتی‌بیوتیک

ارجاع: فاتحی فضلی سید علی، ساده مریم، و کیلی محمود. مشخصات مولکولی استرپتوکوکوس آگالاکتیه جدا شده از نمونه‌های ادرار افراد مراجعه‌کننده به مراکز درمانی شهر یزد. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۰؛ ۳۹ (۶۴۳): ۷۲۹-۷۳۳.

مقدمه

ای مانند دیابت، سرطان یا مشکلات کبدی هستند، گزارش شده است. این باکتری ساکن انتهای دستگاه گوارشی و تناسلی است و گاهی می‌تواند در ناحیه‌ی ادراری نیز کلونیزه گردد. GBS در ۴ تا ۳۰ درصد از ناحیه‌ی رکتوواژینال زنان باردار جامعه وجود دارد، اما با توجه به نوع نمونه‌برداری، محل نمونه‌برداری، نوع محیط کشت مورد استفاده برای ایزوله کردن ارگانیزم، شرایط جغرافیایی، شاخص‌های ایمنولوژیک و سن جمعیت، میزان فراوانی آن می‌تواند متفاوت باشد (۴).

استرپتوکوکوس آگالاکتیه [استرپتوکوکوس گروه B (Group B Streptococcus) یا GBS]] نوعی باکتری است که در ناحیه‌ی واژن زنان باردار کلونیزه می‌شود و به عنوان علت اصلی عفونت در زنان باردار و بیماری‌های عفونی نوزادان مطرح می‌باشد (۱-۲). این باکتری می‌تواند باعث ایجاد بیماری‌های عفونی در افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف گردد (۳). استرپتوکوکوس آگالاکتیه به تازگی به عنوان عامل مهم عفونت در زنان بزرگسال غیر باردار به خصوص آن‌هایی که دارای بیماری‌های زمینه

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد. گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

۲- استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

۳- دانشیار، گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات پیش سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

نویسنده‌ی مسؤؤل: مریم ساده؛ استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

جهت بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن، تمام ایزوله‌های جدا شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومايسين (۱۵ میکروگرم)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ واحد)، لووفلوکساسین (۵ میکروگرم) و تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم) مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور، از محیط Mueller-Hinton agar (شرکت Liofilchem، ایتالیا) استفاده گردید. سنجش حساسیت سویه‌های GBS با استفاده از CLSI-2019 (Clinical and Laboratory Standards Institute-2019) تعیین گردید و هر آنتی‌بیوتیک به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش شد. آزمایش مقاومت القایی به کلیندامایسین (D-Zone) نیز به صورت قرار دادن دو دیسک اریترومايسين و کلیندامایسین به فاصله‌ی ۱۲ میلی‌متر انجام گرفت. در صورت تغییر در شکل هاله به صورت D، این تست مثبت در نظر گرفته شد (۱۰). از سویه‌های استرپتوکوکوس پنومونیه (ATCC 49619) و استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923) به عنوان سویه‌های شاهد در بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی استفاده گردید (تمام دیسک‌های آنتی‌بیوتیک از شرکت پادتن طب ایران تهیه گردید).

در پژوهش حاضر، استخراج DNA ایزوله‌های GBS با استفاده از روش Boiling انجام شد (۱۱). به منظور تأیید آنتی‌ژن B، از پرایمرهای اختصاصی (dlts-F: AGGAATACCAGCGCATGAACCGAT; dlts-R: TGCTCTAATTCTCCCTTATGGC) ثبت شده توسط Poyart و همکاران (۱۲) و از روش Polymerase chain reaction (PCR) استفاده گردید. در مطالعه‌ی حاضر، از سویه‌ی استرپتوکوکوس آگالاکتیه با سروتیپ Ia:389 تهیه شده از Center For Infection Diseases and Microbiology Laboratory Services, Institute of Clinical Pathology and Medical Research, Westmead, New South Wales, Australia به عنوان شاهد مثبت و از آب مقطر استریل دو بار تقطیر نیز به عنوان شاهد منفی استفاده شد.

جهت تعیین سروتیپ‌های مختلف، از روش Multiplex PCR و پرایمرهای اختصاصی ثبت شده توسط Poyart و همکاران (۱۲) و دو مخلوط پرایمر استفاده گردید. یک مخلوط شامل پرایمرهای اختصاصی تیپ‌های Ia, Ib, II, III, IV و مخلوط دوم شامل پرایمرهای اختصاصی برای تیپ‌های V, VI, VII, VIII بود. در تهیه‌ی این محلول به ۶ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه، ۰/۷۵ میکرولیتر $MgCl_2$ ۲۵ میلی‌مولار، ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X، ۰/۵ میکرولیتر Deoxynucleoside triphosphate (dNTP) ۲ میلی‌مولار، ۱۰ میکرولیتر از هر پرایمر، ۰/۲۵ میکرولیتر DNA Taq Polymerase و ۵ میکرولیتر از DNA در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر تهیه گردید. لازم به ذکر است که در تمامی موارد برای شاهد منفی، از آب مقطر استریل دو بار تقطیر به جای DNA ژنومی و از سویه‌های شاهد (Ia, Ib, II, IX) (شرکت New South Wales، استرالیا)

یکی از مهم‌ترین عفونت‌های ناشی از GBS، عفونت مجرای ادراری (Urinary tract infection یا UTI) در زنان باردار و غیر باردار می‌باشد. UTI حاصل از GBS می‌تواند به صورت بدون علامت تا عفونت‌های حادمانند سیستیت، پیلونفریت و اورتریت بروز کند (۳-۴).

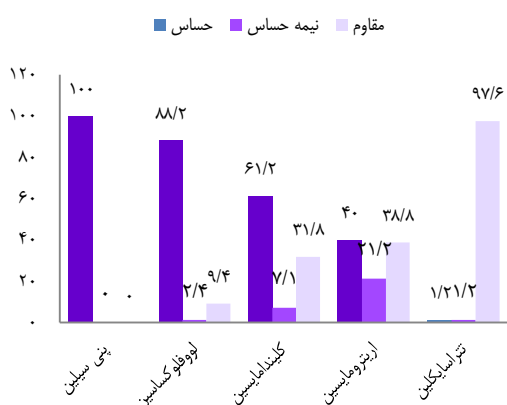
کپسول پلی‌ساکارییدی ویژه‌ی GBS، مهم‌ترین عامل در ممانعت از عمل فاگوسیتوز توسط سلول‌های ایمنی میزبان می‌باشد و منجر به تولید آنتی‌بادی‌های محافظت‌کننده می‌شود و از جنبه‌های اپیدمیولوژیک دارای اهمیت است. تاکنون ۱۰ تیپ مختلف کپسولی از Ia, Ib, II تا IX شناخته شده است و شیوع این سروتیپ‌های کپسولی در جوامع مختلف، متفاوت است (۵-۶).

هرچند بیشتر جدایه‌های GBS به پنی‌سیلین حساس هستند، اما متأسفانه امروزه در این گروه از باکتری‌ها، افزایش مقاومت قابل توجهی به ماکرولیدها و لینکوزامیدها نیز مشاهده شده است (۷). بنابراین، بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی GBS جدا شده از نمونه‌های بالینی ضروری به نظر می‌رسد.

هدف از انجام پژوهش حاضر، ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تعیین سروتیپ‌های کپسولی GBS جدا شده از نمونه‌های ادرار افراد مراجعه‌کننده به مراکز درمانی شهر یزد بود.

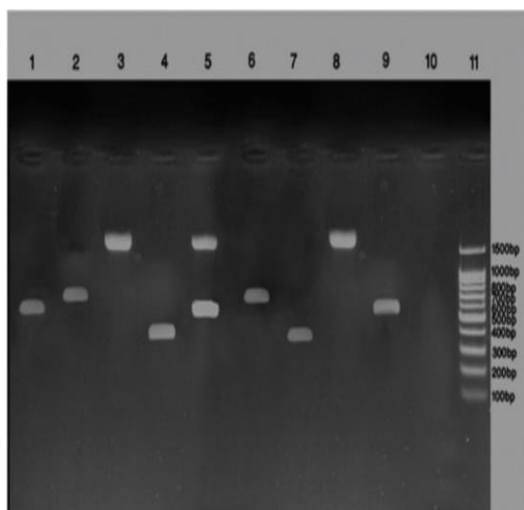
روش‌ها

این مطالعه‌ی توصیفی - مقطعی، در سال ۱۳۹۷ بر روی افرادی که به منظور ارزیابی عفونت ادراری یا به عنوان چکاپ معمولی به مراکز درمانی (آزمایشگاه مرکزی، بیمارستان شهید صدوقی و بیمارستان شهدای کارگر) شهر یزد مراجعه کرده بودند، انجام گردید. نمونه‌های ادرار میانی جمع‌آوری شده از بیماران سرپایی و بستری که طی دو هفته‌ی قبل آنتی‌بیوتیک مصرف نکرده بودند، بر روی محیط Blood agar (شرکت Merck، آلمان) حاوی ۵ درصد خون گوسفند و محیط MacConkey agar (شرکت Merck، آلمان) کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. سپس پلیت‌های با کلنی‌های با ظاهر بتاهمولیتیک بر روی محیط Blood agar که تعداد کلنی‌های آن‌ها CFU/ml^{-1} بیشتر از $10^4 CFU/ml^{-1}$ بود، انتخاب و با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم و تست کاتالاز بررسی شد (۸). شناسایی نهایی جدایه‌های GBS به وسیله‌ی تست Christie-Atkinson-Munch-Peterson (CAMP) و هیدرولیز هیپورات و مقاومت به باسیتراسین صورت گرفت (۹). معیارهای ورود به تحقیق شامل تمام بیماران (هر گروه سنی) با درخواست کشت ادرار مراجعه‌کننده به مراکز درمانی شهر یزد و معیار خروج نیز بیماران با مصرف آنتی‌بیوتیک طی دو هفته‌ی قبل بود.



شکل ۱. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های (GBS) Group B Streptococcus جدا شده از نمونه‌های ادرار افراد مورد بررسی

VIII در مطالعه‌ی حاضر یافت نشد (شکل ۲). بیشترین سروتیپ غالب در زنان باردار مربوط به سروتیپ‌های III (۷ ایزوله)، IV (۴ ایزوله)، Ib (۲ ایزوله)، V (۲ ایزوله)، II (۱ ایزوله) و غیر قابل تیپ‌بندی (۱ ایزوله) بود ($P > 0/050$). تمام ایزوله‌های GBS حساس به پنی‌سیلین بودند و در همه‌ی سروتیپ‌ها مشاهده شد. همچنین، سویه‌های مقاوم به تتراسیکلین و اریترومایسین متعلق به تمام سروتیپ‌ها بود. در مورد ایزوله‌های مقاوم به کلیندامایسین، در تمام سروتیپ‌ها به غیر از Ib مشاهده گردید.



شکل ۲. واکنش Multiplex polymerase chain reaction (Multiplex PCR) سری اول جهت شناسایی سروتیپ‌های کپسولی ایزوله‌های (GBS) Group B Streptococcus جدا شده از نمونه‌های ادرار افراد مورد بررسی

ستون ۱: سروتیپ IV، ستون ۲: سروتیپ Ib، ستون ۳: سروتیپ III، ستون ۴: سروتیپ II، ستون‌های ۵-۹: شاهد مثبت (سروتیپ‌های Ia, Ib, II, III, IV)، ستون ۱۰: شاهد منفی و ستون ۱۱: نشانگر وزن مولکولی Ladder 100bp

جهت شاهد مثبت استفاده گردید. محصولات تکثیر شده‌ی PCR با استفاده از الکتروفورس در ژل آگاروز و در کنار 100 bp DNA ladder (Fermentas, Poland) مورد بررسی قرار گرفت و نتایج با استفاده از دستگاه Gel Documentation (شرکت Life technologies، هند) تحلیل شد.

در نهایت، داده‌ها با استفاده از آزمون χ^2 در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری داده‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در مطالعه‌ی حاضر، از ۵۳۸۴۱ نمونه‌ی پذیرش کشت ادرار در چهار مرکز درمانی شهر یزد، ۶۰۶۸ نمونه‌ی کشت مثبت ادرار به دست آمد که ۸۵ مورد (۱/۴ درصد) از لحاظ GBS مثبت بود. میانگین White blood cells (WBC) از آنالیز ادرار بیماران با کشت مثبت GBS، $5/1 \pm 10/6$ عدد بود. بیشترین ایزوله‌های GBS به آزمایشگاه مرکزی (۹۰/۶ درصد) و پس از آن به بیمارستان شهدای کارگر (۷/۱ درصد) و بیمارستان شهید صدوقی (۲/۴ درصد) اختصاص داشت. تمام نمونه‌ها متعلق به زنان و ۱۷ نفر (۲۰/۰ درصد) از آن‌ها باردار بودند. از نظر توزیع سنی، بیماران در محدوده‌ی ۴ تا ۷۷ سال قرار داشتند. بیشترین محدوده‌ی سنی بین ۱۸ تا ۳۲ سال بود.

از لحاظ بررسی فنوتیپی، ایزوله‌های GBS به دست آمده همگی کوکسی گرم مثبت، کاتالاز منفی، هیپورات مثبت و واکنش CAMP مثبت و مقاوم به باسیتراسین بودند.

طبق شکل ۱، تمام ایزوله‌های GBS به پنی‌سیلین حساس بودند. همچنین، ۲۸ ایزوله (۳۲/۹ درصد) GBS فنوتیپ iMLSB (inducible Macrolide-lincosamide-streptogramin B) یا مقاومت القایی به کلیندامایسین (D-Zone)، ۲۴ ایزوله (۲۸/۲ درصد) فنوتیپ constitutive MLSB (cMLSB)، ۶ ایزوله (۷/۰ درصد) M phenotype و ۱ ایزوله (۱/۲ درصد)، L phenotype داشتند. از لحاظ بررسی مولکولی، تمام نمونه‌ها حاوی ژن DltS بودند و به عنوان GBS تأیید شدند.

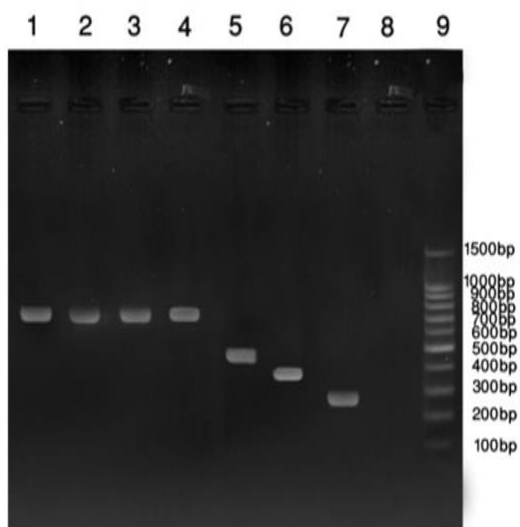
با استفاده از روش Multiplex PCR، سروتیپ‌های کپسولی برای ۷۷ مورد (۹۰/۶ درصد) از ۸۵ مورد آزمایش تعیین گردید (شکل‌های ۲ و ۳). سروتیپ غالب در نمونه‌های GBS به ترتیب سروتیپ III با ۴۳ مورد (۵۰/۶ درصد)، سروتیپ Ib با ۱۲ مورد (۱۴/۱ درصد)، سروتیپ V با ۱۱ مورد (۱۲/۹ درصد)، سروتیپ IV با ۶ مورد (۷/۱ درصد) و سروتیپ II با ۵ مورد (۵/۹ درصد) و ۸ نمونه (۹/۴ درصد) غیر قابل تیپ‌بندی بود. سروتیپ‌های VII، VI، Ia و

بحث

مخزن کلونیزاسیون بدون علامت استرپتوکوکوس‌های آگالاکتیه، رکتوم و واژن زنان می‌باشد. به نظر می‌رسد که زنان میانسال، حساس‌ترین گروه به عفونت‌های ادراری GBS می‌باشند (۱۳). در مطالعه‌ی حاضر، بیشتر بیماران در سنین باروری قرار داشتند، البته تعدادی از بیماران مورد بررسی (۲۰ درصد) باردار بودند.

در تحقیق حاضر، میزان فراوانی GBS در ۶۰۶۸ نمونه‌ی کشت مثبت، ۸۵ مورد (۱/۴ درصد) بود. در پژوهش رهبر و همکاران که در تهران انجام شد، از ۱۱۸۰۰ نمونه‌ی ادرار مورد بررسی، ۴/۲۲ درصد GBS مثبت بودند (۴). در مطالعه‌ی حاضر، اغلب نمونه‌ها از زنانی گرفته شده بود که در سنین باروری قرار داشتند و شاید بالاتر بودن آمار تحقیق رهبر و همکاران (۴) نسبت به بررسی حاضر، همین موضوع باشد، اما در پژوهش طیبی و همکاران که در تهران بر روی ۱۲۴۹ نمونه‌ی ادرار صورت گرفت، ۲۶۴ ایزوله (۲۱/۱ درصد) GBS جدا گردید که نسبت به دیگر مطالعات درصد بالاتری را نشان داد. آن‌ها ۵۷/۹ درصد ایزوله‌ها را از زنان و ۴۲/۴ درصد ایزوله‌ها را از مردان جدا کردند (۸) که با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی نداشت. نتایج پژوهش Foad و همکاران در مصر نشان داد که فراوانی GBS از ۷۴۵ نمونه‌ی زنان غیر باردار حدود ۳/۸ درصد گزارش گردید (۷). در مطالعه‌ی Ulett و همکاران که در استرالیا انجام شد، از ۳۴۳۶۷ نمونه‌ی ادرار، ۳۸۷ مورد (۱/۱ درصد) GBS جدا گردید و ۸۳/۲ درصد از ایزوله‌ها متعلق به زنان بود (۱۴). در تحقیق حاضر، تمامی ایزوله‌ها از نمونه‌ی زنان جدا گردید.

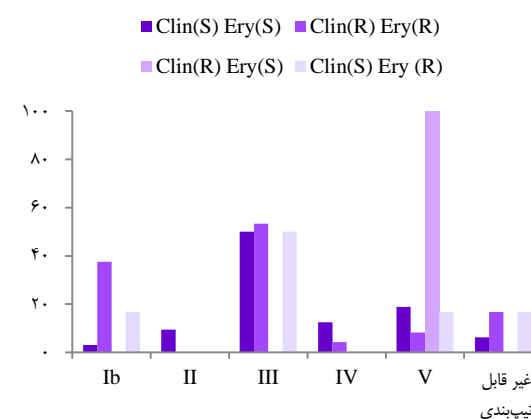
جهت پیشگیری از عفونت‌های GBS، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، منجر به کاهش ۷۰ درصد حاملین این باکتری شده است (۱۵). با این وجود، افزایش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، منجر به مقاومت آنتی‌بیوتیکی در GBS شده است. تست مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش مرسوم دیسک دیفیوژن صورت گرفت (شکل ۱). در پژوهش طیبی و همکاران که بر روی GBS‌های جدا شده از ادرار زنان در تهران انجام شده بود، بیشترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک تتراسیکلین (۸۰/۲ درصد) و کمترین مقاومت به پنی‌سیلین (صفر درصد) گزارش شد (۸) که با نتایج مطالعه‌ی حاضر همخوانی داشت. Ulett و همکاران در بررسی که بر روی GBS‌های جدا شده از ادرار انجام دادند، مقاومت این سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین و کلیندامایسین را به ترتیب ۳۹/۵ و ۲۶/۴ درصد اعلام کردند (۱۴) که با یافته‌های بررسی حاضر همسو بود. در تحقیق نبوی‌نیا و همکاران در یزد مشخص شد که ۹۶/۵ درصد از ایزوله‌های GBS به تتراسیکلین مقاومت داشتند، اما حساسیت به پنی‌سیلین در ۸۹/۵ درصد از ایزوله‌ها مشاهده گردید (۱۱) که با یافته‌های پژوهش حاضر مغایرت داشت. همچنین، مقاومت به



شکل ۳. واکنش Multiplex polymerase chain reaction (Multiplex PCR) سری دوم جهت شناسایی سروتیپ‌های کپسولی ایزوله‌های *Group B Streptococcus* (GBS) جدا شده از نمونه‌های ادرار افراد مورد بررسی

ستون‌های ۱ تا ۳: سروتیپ V، ستون‌های ۴-۷: شاهد مثبت (سروتیپ‌های V، VI، VII، VIII)، ستون ۸: شاهد منفی و ستون ۹: نشانگر وزن مولکولی Ladder 100bp

ارتباط بین سروتیپ‌های کپسولی GBS و فنوتیپ‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین و کلیندامایسین در شکل ۴ نشان داده شده است. فنوتیپ cMLS_B (Ery: R, Clin: R) در تمام سروتیپ‌های موجود به جزء سروتیپ II مشاهده گردید. فنوتیپ M در ارتباط با سروتیپ‌های III (۳ مورد)، Ib (۱ مورد) و V (۱ مورد) و غیر قابل تیپ‌بندی (۱ مورد) و فنوتیپ L تنها ۱ مورد و در سروتیپ V یافت شد.



شکل ۴. ارتباط بین سروتیپ‌های کپسولی *Group B Streptococcus* (GBS) و فنوتیپ‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین و کلیندامایسین S: حساس، R: مقاوم، Clin: کلیندامایسین، Ery: اریترومایسین

۴/۹ درصد از نمونه‌ها نیز غیر قابل تیپ‌بندی گزارش گردید (۱۹). در تحقیق Wang و همکاران که در تایوان صورت گرفت، سروتیپ کپسولی V با ۲۹/۹ درصد بالاترین شیوع را به خود اختصاص داد (۲۰). پژوهش‌های مختلف تنوع توزیع سروتیپ‌های کپسولی GBS را با توجه به منطقه‌ی جغرافیایی طی زمان‌های متفاوت نشان می‌دهد. Genovese و همکاران در ایتالیا از ۳۴۹۴ ایزوله‌ی GBS جدا شده، ۳۴/۹ درصد را مربوط به سروتیپ III و ۳۰/۶ درصد را متعلق به سروتیپ V عنوان کردند. در مطالعه‌ی آن‌ها، ۱۶/۳ درصد از ایزوله‌ها غیر قابل تیپ‌بندی اعلام گردید (۲۱).

بر اساس نتایج تحقیق حاضر، تمام ایزوله‌های GBS به پنی‌سیلین حساس و در همه‌ی سروتیپ‌های کپسولی مشاهده شد. همچنین، ایزوله‌های مقاوم به اریترومايسين در تمام سروتیپ‌ها مشاهده گردید. تفاوت بین سروتیپ‌ها از نظر وجود ایزوله‌های مقاوم به کلیندامایسین معنی‌دار بود ($P = 0/004$)؛ چرا که همه‌ی سروتیپ‌ها به جزء سروتیپ Ib آن‌ها را داشتند، اما در پژوهش Tsai و همکاران، ایزوله‌های مقاوم به اریترومايسين و کلیندامایسین در سروتیپ‌های Ib, III و V مشاهده شد (۲۲).

بر اساس نتایج آنالیز ارتباط بین سروتیپ کپسولی و فنوتیپ‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی اریترومايسين و کلیندامایسین در ایزوله‌های GBS (شکل ۲)، فنوتیپ cMLSb (Clin:R, Ery: R) در تمام سروتیپ‌های کپسولی ایزوله‌های GBS به جزء سروتیپ II مشاهده شد. مطالعه‌ی Genovese و همکاران که در ایتالیا انجام شد، سروتیپ III به عنوان غالب‌ترین سروتیپ کپسولی در ارتباط با هر دو فنوتیپ cMLSb و Clin:S, Ery: S گزارش شد (۲۱). در تحقیق حاضر، فنوتیپ L phenotype (Clin R, Ery S) تنها در سروتیپ V مشاهده شد؛ در حالی که در پژوهش احمدی و همکاران، این فنوتیپ در سروتیپ‌های III و Ia گزارش گردید (۱۷) که شاید به دلیل تفاوت در نوع نمونه‌های مورد بررسی (نمونه‌ی سوپ واژن) باشد. در مطالعه‌ی Hayes و همکاران که به منظور بررسی فنوتیپ L بر روی ۲۳۵ ایزوله‌ی GBS نمونه‌های ایرلندی (سوپ واژینال، جفت و خون) انجام پذیرفت، ۹/۲ درصد (۷ ایزوله) دارای فنوتیپ L بودند که در ارتباط با سروتیپ‌های III, Ia و II عنوان شد (۲۳) که با یافته‌های تحقیق حاضر مطابقت نداشت.

نتیجه‌گیری

با توجه به فراوانی باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه و اهمیت آن در ایجاد عفونت در بزرگسالان و زنان باردار و افزایش مقاومت دارویی در آن، لزوم طرح ملی جهت غربالگری و ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها ضروری است.

اریترومايسين (۱۴ درصد) و کلیندامایسین (۲۱/۱ درصد) عنوان شد. در مطالعه‌ی آنان، ۲۱ درصد از ایزوله‌ها فنوتیپ iMLSb (D-Zone) را داشتند (۱۱)؛ در حالی که در تحقیق حاضر بیش از ۳۲ درصد در پژوهش ایمانیان و همکاران، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به تتراسایکلین (۹۵ درصد) و پس از آن کلیندامایسین (۳۵ درصد) و اریترومايسين (۳۵ درصد) بود. همچنین، مقاومت القایی به کلیندامایسین (D-Zone test) در ۳۲ درصد از ایزوله‌ها مشخص شد (۱۶) که تا حدودی با نتایج مطالعه‌ی حاضر همخوانی داشت. در مطالعه‌ی فروهش تهرانی و همکاران که در تهران انجام گرفت، ۹/۵ درصد از ایزوله‌های GBS فنوتیپ D-Zone داشتند (۳) که نسبت به بررسی حاضر کمتر بود و نشان دهنده‌ی افزایش مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج طی سال‌های اخیر می‌باشد. در تحقیق احمدی و همکاران بر روی ۷۰ ایزوله‌ی GBS جدا شده از ۷۶۰ نمونه‌ی سوپ واژینال زنان باردار بروجنی، حساسیت به پنی‌سیلین در ۱۰۰ درصد ایزوله‌ها و حساسیت نسبت به اریترومايسين و کلیندامایسین به ترتیب در ۸۴/۳ و ۹۰/۰ درصد از ایزوله‌ها مشاهده شد؛ در حالی که ۹۲/۸ درصد از ایزوله‌ها به تتراسایکلین مقاوم بودند. لازم به ذکر است که فنوتیپ iMLSb گزارش نشد (۱۷). در پژوهش Kaminska و همکاران که بر روی ۱۶۵ ایزوله‌ی GBS در لهستان انجام شد، ۵۰ ایزوله (۳۰/۳ درصد) به اریترومايسين و ۴۱ ایزوله (۲۴/۸ درصد) به کلیندامایسین مقاومت داشتند که ۳۰ ایزوله فنوتیپ cMLSb و ۹ ایزوله فنوتیپ M داشتند؛ در حالی که ۱۱ ایزوله دارای فنوتیپ iMLSb بودند (۱۸).

بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، سروتیپ کپسولی III (۵۰/۶ درصد) به عنوان شایع‌ترین سروتیپ گزارش گردید. فراوانی سروتیپ‌های کپسولی V, Ib, IV و II به ترتیب ۱۴/۱، ۱۲/۹، ۷/۱ و ۵/۹ درصد بود. ۸ ایزوله (۹/۴ درصد) قابل تیپ‌بندی نبود. در تحقیق Ulett و همکاران، رایج‌ترین سروتیپ‌های GBS ادرار، سروتیپ V, Ia و III بیان شد (۱۴). در پژوهش ساده و همکاران که در یزد بر روی ۱۰۰ ایزوله‌ی GBS جدا شده از زنان باردار و غیر باردار انجام گرفت، ۵۰ درصد ایزوله‌ها متعلق به سروتیپ III بود و پس از آن، سروتیپ II, Ia, V و Ib عنوان گردید (۶)؛ در حالی که در مطالعه‌ی حاضر، بعد از سروتیپ III، سروتیپ Ib غالب بود که به نظر می‌رسد علت این تفاوت، نوع نمونه‌ی مورد بررسی و دوره‌ی زمانی متفاوت بوده است. نویدنیا و همکاران در تحقیقی که در تهران انجام دادند، دریافتند که سروتیپ کپسولی III با ۵۰/۹ درصد شایع‌ترین سروتیپ می‌باشد و سپس سروتیپ‌های V (۲/۴۷ درصد)، Ib (۱۷/۷۶ درصد)، Ia (۱۵/۵۴ درصد) و Ic (۵/۸۵ درصد) عنوان شد (۱۹) که تا حدودی با یافته‌های پژوهش حاضر همخوانی داشت. در مطالعه‌ی آنان،

از معاونت محترم پژوهشی و کمیته‌ی اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد به شماره‌ی IR.SSU.SPH.REC.1397.130 می‌باشد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی به شماره‌ی ۶۱۸۲ دارای مجوز

References

- Sadeh M, Salehi-Abargouei A, Azartoos N, Mirzaei F, Khalili M B. Distribution of *Streptococcus agalactiae* among Iranian women from 1992 to 2018: A systematic review and meta-analysis. *Jundishapur J Microbiol* 2020; 13(7): e102314.
- Absalan M, Eslami G, Zandi H, Mosaddegh A, Vakili M, Khalili M. Prevalence of recto-vaginal colonization of group B streptococcus in pregnant women. *J Isfahan Med Sch* 2013; 30(220): 2367-75. [In Persian].
- Frouhesh-Tehrani H, Ashrafi-Hafez A, Sharifi Z, Farahzadi H. Assessment of clindamycin and erythromycin resistance, and inducible clindamycin resistance in streptococcus group B isolated from urinary samples of outpatient women in Tehran. *Novel Biomed* 2015; 3(2): 79-83.
- Rahbar M, Hajia M, Mohammadzadeh M. Urinary tract infections caused by group b streptococcus in adult women: Survey of 11800 urine culture results. *Iran J Pathol* 2012; 7(1): 32-7.
- Najarian N, Khalili MB, Astani A, Vakili M, Sadeh M. Serotype determination of *Streptococcus agalactiae* detected from vagina and urine of pregnant women in Yazd, Iran-2015. *International Journal of Medical Laboratory* 2018; 5(1): 49-57.
- Sadeh M, Firouzi R, Derakhshandeh A, Bagher KM, Kong F, Kudinha T. Molecular characterization of *Streptococcus agalactiae* isolates from pregnant and non-pregnant women at Yazd University Hospital, Iran. *Jundishapur J Microbiol* 2016; 9(2): e30412.
- Foad MF. Urinary tract and vaginal infections caused by group B streptococcus and the macrolide-inducible resistance to clindamycin in non-pregnant females. *Int J Curr Microbiol App Sci* 2016; 5(8): 486-96.
- Tayebi Z, Saderi H, Gholami M, Hourii H, Saemi S, Shahram B. Evaluation of antimicrobial susceptibility of *Streptococcus agalactiae* isolates from patients with urinary tract infection (UTI) symptoms. *Infect Epidemiol Med* 2016; 2(4): 17-9.
- Mahon CR, Lehman DC. Textbook of diagnostic microbiology. 6th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2019.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.
- Nabavinia M, Khalili MB, Sadeh M, Eslami G, Vakili M, Azartoos N, et al. Distribution of *Pilus island* and antibiotic resistance genes in *Streptococcus agalactiae* obtained from vagina of pregnant women in Yazd, Iran. *Iran J Microbiol* 2020; 12(5): 411-6.
- Poyart C, Tazi A, Reglier-Poupet H, Billoet 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.
- Bidgani S, Navidifar T, Najafian M, Amin M. Comparison of group B streptococci colonization in vaginal and rectal specimens by culture method and polymerase chain reaction technique. *J Chin Med Assoc* 2016; 79(3): 141-5.
- Ulett KB, Benjamin WH, 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.
- Salehi F, Eslami G, Sadeh M, Khalili MB. Determination of *Streptococcus agalactiae* resistance to selective antibiotics and detection of resistance gene to erythromycin isolated from vagina of carrier women in Yazd, Iran, 2015. *J Isfahan Med Sch* 2016; 34(389): 783-8. [In Persian].
- Emaneini M, Mirsalehian A, Beigvierdi R, Fooladi AA, Asadi F, Jabalameli F, et al. High incidence of macrolide and tetracycline resistance among *Streptococcus agalactiae* strains isolated from clinical samples in Tehran, Iran. *Maedica (Bucur)* 2014; 9(2): 157-61.
- Ahmadi J, Sadeh M, Kahalili M, Vakili M. Identification of capsular serotype and antibiotic resistance of streptococcus agalactiae isolated from pregnant women. *J Isfahan Med Sch* 2021; 39(627): 400-7. [In Persian].
- Kaminska D, Ratajczak M, Szumala-Kakol A, Dlugaszewska J, Nowak-Malczewska DM, Gajecka M. Increasing resistance and changes in distribution of serotypes of *Streptococcus agalactiae* in Poland. *Pathogens* 2020; 9(7): 526.
- Navidinia M, Rashidan M, Rahimipour A, Goudarzi M. capsular genotypes distribution and antibiotic resistance pattern of group B streptococcus (GBS) isolated from clinical samples, Tehran, Iran. *Journal of Pure and Applied Microbiology* 2017; 11(1): 111-7.
- Wang YH, Chen HM, Yang YH, Yang TH, Teng CH, Chen CL, et al. Clinical and microbiological characteristics of recurrent group B streptococcal infection among non-pregnant adults. *Int J Infect Dis* 2014; 26: 140-5.
- Genovese C, D'Angeli F, Di S, V, Tempera G, Nicolosi D. *Streptococcus agalactiae* in pregnant women: Serotype and antimicrobial susceptibility patterns over five years in Eastern Sicily (Italy). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020; 39(12): 2387-96.
- Tsai MH, Hsu JF, Lai MY, Lin LC, Chu SM, Huang HR, et al. Molecular characteristics and antimicrobial resistance of group B streptococcus strains causing invasive disease in neonates and adults. *Front Microbiol* 2019; 10: 264.
- Hayes K, Cotter L, Barry L, O'Halloran F. Emergence of the L phenotype in Group B Streptococci in the South of Ireland. *Epidemiol Infect* 2017; 145(16): 3535-42.

Molecular Characterization of Streptococcus Agalactiae Isolates from Urine Samples of Patients Referred to Yazd City Medical Centers, Iran

Seyed Ali Fatehi-Fazli¹, Maryam Sadeh², Mahmood Vakili³

Original Article

Abstract

Background: Streptococcus agalactiae, a group B streptococcus (GBS), is commonly found in the vagina, rectum, and urinary tract of pregnant and non-pregnant women. This bacterium, not only causes neonatal infections, but also causes invasive diseases including urinary tract infections in pregnant women and non-pregnant adults. Penicillin and macrolides are the main antibiotics in the treatment of GBS infections, but the prevalence of resistant strains is increasing. On the other hand, the distribution of bacterial capsule serotypes varies depending on the sampling time, geographical location and type of sample, and it is necessary to determine the most common type of capsule type in preparing a suitable vaccine. The aim of this study was to investigate the antimicrobial resistance and capsular serotypes in GBS isolated from urine samples of patients referred to Yazd City medical centers, Iran.

Methods: This descriptive cross-sectional study was performed on 85 GBS isolates from 6068 urine positive culture samples for phenotypic survey and determining the pattern of antibiotic resistance to antibiotic disks using Kirby-Bauer method. Moreover, capsular serotypes of isolates were determined by multiplex polymerase chain reaction (PCR).

Findings: The frequency of GBS in urinary samples was 1.4%. The highest antibiotic resistance was to tetracycline (97.6%) and the lowest to penicillin (0.0%). The predominant capsular serotype was III (50.6%) followed by serotypes Ib (14.1%), V (12.9%), IV (7.1%), and II (5.9%). 9.4% of isolates were non-typeable.

Conclusion: The prevalence of GBS in urinary specimens was low, and capsular serotype III was predominant as in previous studies. Macrolide resistance is increasing in urinary GBS isolates.

Keywords: Streptococcus agalactiae; Urinary tract infections; Serotyping; Antibiotic resistance

Citation: Fatehi-Fazli SA, Sadeh M, Vakili M. **Molecular Characterization of Streptococcus Agalactiae Isolates from Urine Samples of Patients Referred to Yazd City Medical Centers, Iran.** J Isfahan Med Sch 2021; 39(643): 723-9.

2- MSc Student, Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
2- Assistant Professor, Department of Laboratory Sciences, School of Paramedicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

3- Associate Professor, Department of Community Medicine, School of Medicine AND Health Monitoring Research Center, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Corresponding Author: Maryam Sadeh, Assistant Professor, Department of Laboratory Sciences, School of Paramedicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran; Email: sadeh_m20@yahoo.com