

تعیین سروتیپ‌های کپسولی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *Streptococcus agalactiae* جدا شده از زنان باردار

جلال احمدی^۱، مریم ساده^۲، محمدباقر خلیلی^۳، محمود وکیلی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: *Streptococcus agalactiae* (استرپتوکوکوس گروه B یا GBS)، ساکن طبیعی دستگاه گوارش و ادراری-تناسلی افراد سالم است و به عنوان شایع‌ترین علت سپسیس، مننژیت، پنومونی و بیماری‌های شدید در نوزادان تازه متولد شده است. مقاومت به پنی‌سیلین و ماکرولیدها به عنوان آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی درمان عفونت‌های GBS رو به افزایش است. مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین سروتیپ‌های کپسولی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *Streptococcus agalactiae* در زنان باردار مراجعه کننده به بیمارستان ولیعصر (عج) شهرستان بروجن انجام شد.

روش‌ها: این مطالعه‌ی توصیفی-مقطعی بر روی ۷۶۰ نمونه‌ی سواپ واژینال خانم‌های باردار (هفته‌های ۳۷-۳۵ بارداری) انجام شد. باکتری‌های جدا شده با روش‌های فنوتیپی شناسایی و بعد از تأیید GBS، مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های GBS نسبت به دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن انجام و سپس، سروتیپ‌های کپسولی جدایه‌ها به روش Multiplex polymerase chain reaction (Multiplex PCR) تعیین شد.

یافته‌ها: از ۷۶۰ زن باردار شرکت کننده در این مطالعه، ۷۰ نفر (۹/۲ درصد) حامل GBS بودند. بیشترین مقاومت جدایه‌ها مربوط به تتراسیکلین (۹۲/۸۵ درصد) و کمترین مقاومت نسبت به پنی‌سیلین (۰) بود. فراوان‌ترین سروتیپ کپسولی سروتیپ III (۴۵/۷۱ درصد)، سپس سروتیپ‌های II (۱۷/۱۴ درصد)، VI (۱۴/۲۸ درصد)، Ib (۱۱/۴۲ درصد)، V (۸/۵۷ درصد) و Ia (۲/۸۵ درصد) بود.

نتیجه‌گیری: شیوع این باکتری و میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به ماکرولیدها در این مطالعه پایین و همانند سایر مطالعات سروتیپ کپسولی III غالب بود.

واژگان کلیدی: *Streptococcus agalactiae*; مقاومت آنتی‌بیوتیکی؛ زنان باردار؛ سروتاایپینگ؛ استرپ گروه B

ارجاع: احمدی جلال، ساده مریم، خلیلی محمدباقر، وکیلی محمود. تعیین سروتیپ‌های کپسولی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *Streptococcus agalactiae* جدا شده از زنان باردار. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۰؛ ۳۹ (۶۲۷): ۴۰۷-۴۰۰.

نوزادی نظیر سیتی سمی و مننژیت می‌باشد و نقش مهمی در عفونت‌های مادری از قبیل کوریوآمونیوت، پیلونفریت، اندومتريت و عفونت‌های بعد از زایمان دارد (۱-۲).

اگر چه بسیاری از نوزادان آلوده شده با تجویز آنتی‌بیوتیک مناسب درمان می‌شوند، اما عوارض عصبی ناشی از عفونت در گروهی از نوزادان مشکلات زیادی ایجاد می‌کند. میزان مرگ و میر به طور متوسط در حدود ۱ درصد می‌باشد (۳).

مقدمه

Streptococcus agalactiae (Group B streptococcus یا GBS) یک باکتری گرم مثبت است که به عنوان فلور در ناحیه‌ی واژن و یا رکتوم ۴۳-۶/۵ درصد زنان باردار یافت می‌شود و نوزادانی که از این مادران متولد می‌شوند، ممکن است به علت برخورد با باکتری حین عبور از کانال زایمان یا در دوران نوزادی بیمار شوند. از این رو، کلونیزاسیون باکتری، یکی از مهم‌ترین عوامل مرتبط با عفونت‌های

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات ایمنی‌شناسی تولید مثل، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

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

۳- دانشیار میکروبی‌شناسی، گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

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

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

Email: sadeh_m20@yahoo.com

در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شدند. سپس، به وسیله‌ی سوپ استریل مقداری از این محیط در محیط Merck, Germany) Blood agar (حاوی ۵ درصد خون گوسفندی تلقیح و کشت داده شد و در جار حاوی ۵ درصد CO₂ به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس، کلنی‌های مشکوک (سفید تا خاکستری همراه با همولیز بتا) بعد از رنگ‌آمیزی گرم با استفاده از آزمون‌های میکروپشناسی نظیر آزمایش کاتالاز، هیدرولیز هیپورات سدیم و آزمایش کمپ تعیین هویت گردید (۶).

جهت بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تمام جدایه‌های GBS نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰ واحد)، اریترومايسين (۱۵ میکروگرم)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم) و تتراسیکلین (۳۰ میکروگرم) (شرکت پادتن طب، ایران) و به روش انتشار از دیسک (Kirby-Bauer) و با استفاده از محیط Blood Muller-Hinton agar (Liofilchem, Italy) و طبق شیوه‌نامه‌ی Clinical and Laboratory Standards Institute-2019 (CLSI 2019) مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش D zone طبق شیوه‌نامه‌ی CLSI 2019 انجام گردید. از سویه‌های *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) و *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619) به عنوان سویه‌های شاهد در بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی استفاده گردید. استخراج DNA جدایه‌های GBS با استفاده از روش Boiling انجام گرفت (۷). برای تعیین Ag B جدایه‌ها با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (dltS F, R) ثبت شده توسط پویارت و همکاران و با روش Polymerase chain reaction (PCR) انجام شد (۸).

جهت تعیین سروتیپ‌های کپسولی جدایه‌های GBS با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) ثبت شده توسط Poyart و همکاران (۸) انجام شد. در این روش، از دو مخلوط پرایمر استفاده شد؛ به این ترتیب که مخلوط اول شامل پرایمرهای اختصاصی تیپ‌های Ia, Ib, II, III و IV و مخلوط دوم شامل پرایمرهای اختصاصی برای تیپ‌های V, VI, VII و VIII بود. برای تهیه‌ی این محلول، به ۶ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه، به ترتیب ۲/۵ میکرولیتر بافر 10X، ۰/۷۵ میکرولیتر ۲۵ میلی‌مولار، ۰/۵ میکرولیتر Deoxynucleoside triphosphate (dNTP) ۲ میلی‌مولار، ۰/۲۵ میکرولیتر DNA Tag Polymerase، ۱۰ میکرولیتر از پرایمرهای پیش‌گفته و ۵ میکرولیتر از هر نمونه DNA اضافه گردید.

برنامه‌ی دمایی دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf) بدین صورت بود که دناتوراسیون اولیه‌ی DNA در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه، چرخه‌ی اصلی با ۳۵ بار تکرار شامل دناتوراسیون در

آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام نظیر پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین به عنوان داروهای خط اول برای درمان و پیش‌گیری از عفونت‌های GBS مورد استفاده قرار می‌گیرد. آنتی‌بیوتیک‌های اریترومايسين و کلیندامایسین برای درمان عفونت در افرادی که به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام آلرژی دارند، به کار می‌رود. مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های کلیندامایسین و اریترومايسين با توجه به مطالعات انجام شده در یک دهه‌ی اخیر در کشورهای مختلف، در حال افزایش است (۴).

کپسول پلی‌ساکاریدی جزء عوامل ویروانس باکتری GBS می‌باشد و *Streptococcus agalactiae* بر اساس آنتی‌ژن‌های پلی‌ساکارید کپسولی، به ۱۰ در مطالعه‌ای که سروتیپ تقسیم می‌شود. لوکوس ژنی Capsular polysaccharide (CPS) مسئول تولید کپسول در باکتری GBS است. با توجه به این که فراوانی انواع مختلف سروتیپ‌های کپسولی این باکتری در نقاط مختلف دنیا متفاوت است، بررسی سروتیپ‌های کپسولی این باکتری در نقاط مختلف کشور و تعیین شایع‌ترین نوع سروتیپ کپسولی در تهیه و تولید واکسن مناسب، لازم است (۵).

با توجه به اهمیت عفونت GBS در نوزادان تازه متولد شده و ارابه‌ی دستورالعمل توسط مرکز پیش‌گیری و کنترل بیماری‌های عفونی (Centers for Disease Control and Prevention) یا CDC در سال ۲۰۱۰ جهت غربالگری معمول تمام زنان باردار و پیش‌گیری از عفونت GBS و با توجه به این که غربالگری خانم‌های باردار طی هفته‌های ۳۷-۳۵ بارداری در کشورهای توسعه یافته در حال اجرا می‌باشد. بنابراین، هدف از این مطالعه، بررسی فراوانی و تعیین سروتیپ‌های کپسولی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *Streptococcus agalactiae* جدا شده در زنان باردار مراجعه کننده به بیمارستان ولیعصر (عج) شهرستان بروجن در سال ۱۳۹۸ بود.

روش‌ها

این مطالعه‌ی توصیفی-مقطعی بر روی ۷۶۰ خانم باردار (۳۷-۳۵ هفته‌ی بارداری) و در محدوده‌ی سنی ۲۲-۴۰ سال (میانگین سنی ۳۰/۱ سال) که طی مدت ۸ ماه (آذر ۱۳۹۸ تا تیر ۱۳۹۹) به بیمارستان ولیعصر (عج) شهر بروجن، چهارمحل و بختیاری مراجعه کرده بودند، انجام شد. معیارهای ورود به مطالعه، بارداری و عدم مصرف آنتی‌بیوتیک طی دو هفته‌ی اخیر و معیار خروج از مطالعه، مصرف اخیر آنتی‌بیوتیک بود.

پس از اخذ رضایت و تکمیل پرسش‌نامه‌ی نمونه‌گیری با سوپ استریل از ناحیه‌ی واژینال انجام و در محیط Todd Hewitt broth قرار داده شد. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه به مدت ۲۴ ساعت

یافته‌ها

از ۷۶۰ سوپاواژینال، ۷۰ نمونه (۹/۲ درصد) GBS جدا گردید. تمام جدایه‌های GBS از لحاظ فنوتیپی، کوکسی گرم مثبت، کاتالاز منفی، Christie-Atkins-Munch-Peterson (CAMP) مثبت و هیدرولیزکننده‌ی هیپورات بودند.

از نظر بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های GBS، بیشترین مقاومت نسبت به تتراسیکلین (۹۲/۸۵ درصد) و بعد از آن، کلیندامایسین و اریترومایسین، (هر دو ۴/۳ درصد) بود. تمام جدایه‌ها به پنی‌سیلین حساس بودند (جدول ۲).

جدول ۲. توزیع فراوانی مقاومت *Streptococcus agalactiae* نسبت به

آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی در حاملین

آنتی‌بیوتیک	حساس (S)	نیمه حساس (I)	مقاوم (R)	کل
پنی‌سیلین	۷۰ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۷۰ (۱۰۰)
کلیندامایسین	۶۳ (۹۰)	۴ (۵/۷)	۳ (۴/۳)	۷۰ (۱۰۰)
تتراسیکلین	۴ (۵/۷)	۱ (۱/۴)	۶۵ (۹۲/۸۵)	۷۰ (۱۰۰)
اریترومایسین	۵۹ (۸۴/۳)	۸ (۱۱/۴)	۳ (۴/۳)	۷۰ (۱۰۰)

داده‌ها به صورت تعداد (درصد) آمده است.

همچنین، ۳ جدایه (۴/۲۸ درصد) M phenotype و ۲ جدایه (۲/۸۵ درصد) L phenotype را داشتند. فنوتیپ‌های iMLSB (D zone) و cMLSB در این مطالعه یافت نشدند. در این مطالعه، تمام جدایه‌ها حاوی ژن *dlts* بودند و به عنوان GBS تأیید شدند.

سروتیپ‌های کپسولی تمام جدایه‌های GBS با استفاده از روش Multiplex PCR تعیین گردید. غالب‌ترین سروتیپ در این مطالعه، سروتیپ III ۳۲ مورد (۴۵/۷۱ درصد) و سپس، سروتیپ‌های II ۱۲ مورد (۱۷/۱۴ درصد)، VI ۱۰ مورد (۱۴/۲۸ درصد) و Ib ۸ مورد (۱۱/۴۲ درصد)، V ۶ مورد (۸/۵۷ درصد) و Ia ۲ مورد (۲/۸۵ درصد) بودند. سروتیپ‌های IV، VII و VIII در این مطالعه یافت نشد (شکل ۱).

تمام جدایه‌های GBS به پنی‌سیلین حساس بودند و در همه‌ی سروتیپ‌ها مشاهده شد. سه نمونه به کلیندامایسین مقاومت داشت که متعلق به سروتیپ‌های III (۲ مورد) و Ia (۱ مورد) بود (P = ۰/۰۹۰). ۶۵ جدایه‌ی GBS، به تتراسیکلین مقاوم بودند که متعلق به تمام سروتیپ‌های کپسولی بود (P = ۰/۰۰۷). مقاومت به اریترومایسین تنها در سروتیپ‌های III (۲ مورد) و II (۱ مورد) مشاهده شد (P = ۰/۸۰۰).

دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۱ دقیقه، اتصال پرایمرها در دمای ۴۹/۵ درجه‌ی سانتی‌گراد برای مخلوط اول و در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد برای مخلوط دوم برای ۱ دقیقه و تکثیر در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۱ دقیقه و در نهایت، تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه انجام شد.

در این مطالعه، از سروتیپ‌های شاهد 389 Ia، 338 Ib، 391 II، 453 III، 668 IV، 1523 V، 157 VI، 1603 VII و 1608 VIII تهیه شده از Institute of Clinical Pathology and Medical Research Center For Infection Diseases and Microbiology Laboratory Services

Westmead، New South Wales، Australia استفاده گردید.

بعد از جمع‌آوری داده‌ها و با استفاده از آزمون آماری χ^2 و نتایج با در نظر گرفتن $P < ۰/۰۵۰$ به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) تجزیه و تحلیل شد.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده و ژن‌های هدف در این مطالعه (۸)

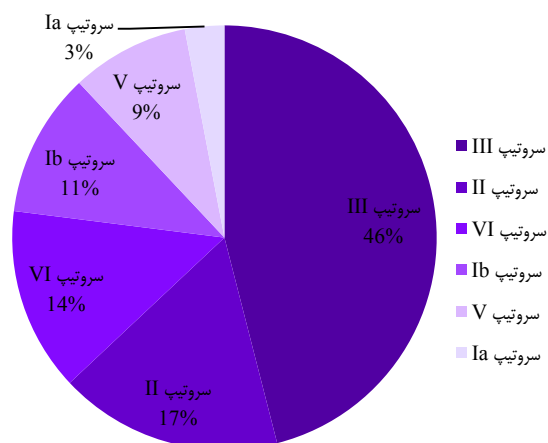
پرایمر	توالی پرایمر (۵'–۳')	طول محصول (bp)
Ia	F:GGTCAGACTGGATTAATGGT ATGC	۵۲۱ و ۱۸۲۶
Ib	R:GTAGAAATAGCCTATATAACG TTGAATGC	۷۷۰
Ib	F:TAAACGAGAATGGAATATCA CAAACC	۷۷۰
II	R:GAATTAACCTCAATCCCTAA ACAATATCG	۳۹۷
III	F:GCTTCAGTAAGTATTGTAAG ACGATAG	۱۸۲۶
III	R:TTCTCTACGAAATCAAATAA TTCTATAGGG	۱۸۲۶
IV	F:TCCGTACTIONACAACAGACTCA TCC	۵۷۸
IV	R:AGTAACCGTCCATACATTCT ATAAGC	۵۷۸
V	F:GGTGGTAATCCTAAGAGTGA ACTGT	۷۰۱
V	R:CCTCCCCAATTTTCGTCCATA ATGGT	۷۰۱
VI	F:GAGGCCAATCAGTTGCACGTAA R:AACCTTCTCCTTACACTAA TCCT	۴۸۷
VI	F:GGACTTGAGATGGCAGAAG GTGAA	۴۸۷
VII	R:CTGTCCGACTATCCTGATGA ATCTC	۳۷۱
VII	F:CCTGGAGAGAACAATGTCCA GAT	۳۷۱
VIII	R:GCTGGTTCGTGATTCTACACA	۲۸۲
VIII	F:AGGTCAACCACTATATAGCGA R:TCTTCAAATTCGCTGACTT	۲۸۲
dlt-S	F:AGGAATACCAGGCGATGAA CCGAT	۹۵۲
dlt-S	R:TGCTCTAATTCCTCCCTTATGGC	۹۵۲

شامل مادیگان آمریکا ۱۸/۳ درصد (۱۰)، فرانسه ۸ درصد (۱۱)، آلمان ۲۳ درصد (۱۲)، لبنان ۱۷/۷ درصد (۱۳) و کره ۸ درصد (۱۴) گزارش کرده‌اند. نویسندگان، قومیت افراد را دلیل بعضی از این اختلافات در کشورهای مختلف دانسته‌اند و اعلام کرده‌اند که میزان شیوع GBS در جمعیت‌های آمریکایی، آفریقایی و اسپانیایی نسبت به جوامع سفید پوست بالاتر است. همچنین، عنوان کرده‌اند که میزان شیوع GBS بر حسب محل نمونه‌برداری (واژن، مقعد و یا هر دو) آمارهای متفاوتی را در نواحی مختلف جغرافیایی نشان می‌دهد و روش‌های تعیین شیوع GBS در جوامع، دلیل دیگر این اختلافات عنوان شده است (۱۰). در مطالعه‌ای که توسط Milyani و همکاران در جده‌ی عربستان انجام پذیرفت، از ۲۳۵ نمونه‌ی سوآپ واژن از ۳۰/۶ درصد GBS جدا گردید. در این مطالعه، همچنین از ۱۷۰ نمونه‌ی سوآپ رکتال ۱۵/۹ درصد GBS و از همین تعداد سوآپ واژن و رکتوم شرکت کنندگان در مطالعه به طور هم‌زمان تنها ۱۵/۳ درصد GBS جدا گردید (۱۵).

در مطالعه‌ی Sahraee و همکاران (۱۶) در رشت، از ۲۴۵ نمونه‌ی سوآپ واژن زنان باردار ۱۹ مورد (۷/۸ درصد) GBS با روش کشت و ۲۸ مورد (۱۱/۴ درصد) با PCR و از ۲۴۵ نمونه‌ی سوآپ رکتال ۲۴ مورد (۹/۸ درصد) با روش کشت و ۲۹ مورد (۱۱/۸ درصد) با PCR گزارش شد. همچنین، از ۲۴۵ سوآپ رکتوواژینال زنان باردار با روش کشت ۹/۷ درصد و با PCR ۱۵/۹ درصد GBS جدا گردید. در این مطالعه، نویسندگان ایزولاسیون GBS را بیشتر از نمونه‌های سوآپ رکتال عنوان کردند. در مطالعه‌ی حاضر، نمونه‌های سوآپ واژینال مورد بررسی قرار گرفت و ممکن است یکی از دلایل شیوع پایین GBS در این منطقه، بررسی نمونه‌ی واژن به تنهایی باشد.

جهت بررسی فنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد. هیچ مقاومتی در پنی‌سیلین مشاهده نشد؛ در حالی که کمترین مقاومت مربوط به اریترومايسين و کلیندامایسین (هر دو ۳/۴ درصد) و بیشترین مقاومت مربوط به تتراسیکلین (۹۲/۸۵ درصد) به دست آمد (جدول ۲). در مطالعه‌ی Mengist و همکاران بر روی زنان باردار در جیما (اتیوپی)، تمام جدایه‌های *Streptococcus agalactiae* به پنی‌سیلین G حساس بودند، اما نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کلیندامایسین (۳/۲ درصد)، اریترومايسين (۶/۵ درصد) و تتراسیکلین (۴۵/۲ درصد) مقاوم بودند (۱۷).

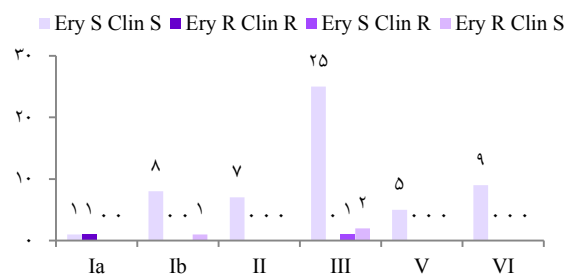
در مطالعه‌ی Tsai و همکاران بر روی ۳۲۵ نمونه‌ی *Streptococcus agalactiae* جدا شده از نمونه‌های مختلف در تایوان، همه‌ی جدایه‌ها به پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین و ونکومايسين حساس بودند؛ در حالی که ۴۸/۹ درصد و ۵۴/۴ درصد جدایه‌ها به



شکل ۱. فراوانی سروتیپ‌های کپسولی جدایه‌های

Streptococcus agalactiae افراد مورد مطالعه

در شکل ۲، ارتباط سروتیپ‌های کپسولی و فنوتیپ‌های مقاومت آنتی‌بیوتیک‌های اریترومايسين و کلیندامایسین نشان داده شده است. Ery R Clin S) M phenotype در سروتیپ‌های III (۲ مورد) و Ib (۱ مورد) و Ery S Clin R) L phenotype در سروتیپ‌های III و Ia هر کدام یک مورد مشاهده شد. فنوتیپ Ery S Clin S در تمام سروتیپ‌های کپسولی مشاهده شد.



شکل ۲. ارتباط بین سروتیپ‌های کپسولی *Streptococcus agalactiae* و

فنوتیپ‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومايسين و کلیندامایسین

بحث

در این مطالعه، میزان فراوانی GBS در خانم‌های باردار ۹/۲ درصد بود. در یک مطالعه‌ی مرور نظام‌مند و متا‌آنالیزی که توسط ساده و همکاران (۹) در ایران انجام شد. ۱۱/۹ درصد از زنان ایرانی حامل این باکتری بودند که نتایج این مطالعه نزدیک به آمار کلی شیوع این باکتری در زنان ایرانی بود. Ippolito و همکاران، شیوع GBS در زنان سن باروری مادیگان آمریکا را در مقایسه با کشورهای مختلف

سروتیپ‌های کپسولی در جوامع مختلف طی زمان‌های مختلف وجود دارد و بررسی مطالعات این تنوع را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج این مطالعه، تمام جدایه‌های GBS به پنی‌سیلین حساس و مربوط به تمام سروتیپ‌ها بودند. بین مقاومت و حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومايسين و کلیندامایسین با سروتیپ‌های کپسولی باکتری، ارتباط معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$)؛ حال آن‌که بین مقاومت به تتراسیکلین با سروتیپ‌های کپسولی ارتباط معنی‌داری مشاهده شد ($P = 0.007$).

بر اساس نتایج این مطالعه، سروتیپ‌های Ib، III و VI بیشترین مقاومت (۱۰۰ درصد) به تتراسیکلین را داشتند؛ حال آن‌که در مطالعه‌ی Zhao و همکاران در استرالیا، سروتیپ Ia کپسولی بیشترین مقاومت به تتراسیکلین داشت (۲۸). در مطالعه‌ی دیگری که Genovese و همکاران (۲۹) در ایتالیا انجام دادند، از ۳۴۹۴ جدایه‌ی GBS، ۶ سویه‌ی مقاوم به پنی‌سیلین گزارش کردند که متعلق به سروتیپ‌های Ia (۱ مورد)، III (۲ مورد) و V (۳ مورد) عنوان شد. بر اساس نتایج شکل ۲، سروتیپ غالب کپسولی این مطالعه (سروتیپ III) دارای فنوتیپ‌های M phenotype (Ery R Clin S) مورد ۲ و Ery S Clin R) L phenotype (۱ مورد مشاهده شد. ۲۵ مورد از سروتیپ‌های III فنوتیپ Ery S Clin S داشتند. در مطالعه‌ی در ایتالیا، سروتیپ III به عنوان سروتیپ غالب این مطالعه و با فنوتیپ‌های cMLSb و Ery S Clin S عنوان شد (۲۹). در این مطالعه، فنوتیپ cMLSb مشاهده نشد. در مطالعه‌ی Dutra و همکاران در برزیل بر روی ۴۳۴ نمونه‌ی GBS، ۱۸ جدایه‌ی مقاوم به کلیندامایسین و اریترومايسين مشخص گردید که ۱۳ جدایه‌ی دارای فنوتیپ cMLSb و متعلق به سروتیپ‌های Ia (۴ جدایه)، II (۴ جدایه)، III (۲ جدایه)، Ib (۲ جدایه) و NT (۱ جدایه) بودند. همچنین، ۳ جدایه فنوتیپ M داشتند که متعلق به سروتیپ‌های III، II و Ia بودند (۳۰).

نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که میزان فراوانی GBS در بین زنان باردار شهرستان بروجن پایین (۹/۲۱ درصد) و حساسیت این باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک انتخابی (پنی‌سیلین) و سایر آنتی‌بیوتیک‌های جایگزین (اریترومايسين و کلیندامایسین) مناسب است، اما مقاومت نسبت به تتراسیکلین در حال افزایش می‌باشد. همچنین، غالب‌ترین سروتیپ کپسولی در این مطالعه، مطابق بیشتر نتایج اعلام شده در شهرهای مختلف، سروتیپ III بود. بنابراین، با توجه به اهمیت عفونت‌های ناشی از *Streptococcus agalactiae* در نوزادان تازه متولد شده و توصیه‌ی مرکز کنترل بیماری‌ها (CDC) برای غربالگری زنان باردار

ترتیب به اریترومايسين و کلیندامایسین حساس بودند (۱۸). نتایج این مطالعه نشان داد پنی‌سیلین همچنان یک داروی مناسب برای درمان عفونت‌های *Streptococcus agalactiae* است و افرادی که به پنی‌سیلین آلرژی دارند، باید از آنتی‌بیوتیک‌های جایگزین برای درمان عفونت‌های *Streptococcus agalactiae* استفاده نمایند. یکی از مهم‌ترین این آنتی‌بیوتیک‌ها، ماکرولیدها هستند. در مطالعه‌ی که Shadbad و همکاران (۱۹) بر روی ۸۷ جدایه‌ی *Streptococcus agalactiae* انجام دادند، مقاومت به تتراسیکلین (۹۸/۹ درصد)، اریترومايسين (۲۹/۹ درصد) و کلیندامایسین (۱۸/۹ درصد) اعلام گردید. مقایسه‌ی مطالعات انجام گرفته نشان می‌دهد که افزایش قابل توجهی در مقاومت به اریترومايسين و کلیندامایسین در باکتری GBS در کشور ما ایجاد شده است (۲۰، ۷). این مسأله از نظر درمان دارای اهمیت است.

طبق شکل ۱، بیشترین سروتیپ کپسولی مربوط به سروتیپ III با ۳۲ مورد (۴۵/۷۱ درصد) بود و سپس، سروتیپ‌های II با ۱۲ مورد (۱۷/۱۴ درصد)، VI با ۱۰ مورد (۱۴/۲۸ درصد)، Ib با ۸ مورد (۱۱/۴۲ درصد)، V با ۶ مورد (۸/۵۷ درصد) و Ia با ۲ مورد (۲/۸۵ درصد) بودند. در مطالعه‌ی ساده و همکاران بر روی جدایه‌های GBS جمع‌آوری شده از افراد باردار و غیر باردار در یزد، سروتیپ III (۵۰ درصد) بیشترین فراوانی را داشت و بعد از آن، سروتیپ II با فراوانی ۲۵ درصد قرار داشت (۲۱) که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد. Hanh و همکاران (۲۲) در مطالعه‌ی شایع‌ترین سروتیپ در جدایه‌های GBS در زنان ویتنامی را سروتیپ III (۳۹/۱۳ درصد) و بعد از سروتیپ V (۳۱/۸۹ درصد)، عنوان کردند. Ippolito و همکاران (۱۰) در مطالعه‌ی شایع‌ترین سروتیپ در سویه‌های GBS در زنان فیلیپینی را سروتیپ III و سپس، سروتیپ II گزارش کردند. بعضی از مطالعات شیوع سروتیپ II را در ارتباط با موارد عفونت‌های غیر تهاجمی و حاملین عنوان کرده‌اند (۲۳). در مطالعه‌ی دیگری که توسط یاسینی و همکاران در کاشان انجام شد، سروتیپ III (۳۲/۱۴ درصد) غالب‌ترین سروتیپ و بعد از آن، به ترتیب سروتیپ V (۲۱/۴۳ درصد)، IV (۱۴/۳ درصد)، Ia (۱۰/۷ درصد)، VI (۱۰/۷ درصد)، Ib (۷/۱۳ درصد) و VII (۳/۶ درصد) گزارش شدند (۲۴).

در مطالعه‌ی جنتی و همکاران (۲۵) در اردبیل، شیوع سروتیپ VI با فراوانی ۱۰/۷ درصد گزارش شد که با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی داشت. شیوع بالاتر یک سروتیپ کپسولی خاص در میان نمونه‌های *Streptococcus agalactiae* می‌تواند به عنوان قابلیت بیماری‌زایی بیشتر آن سروتیپ در نظر گرفته شود. سروتیپ III به عنوان عامل غالب عفونت‌های تهاجمی شدید و عفونت‌های زودرس و دیررس مطرح است (۲۶-۲۷). از این رو، تفاوت در توزیع

معاونت پژوهشی این دانشگاه انجام شده است. بدین‌وسیله از این معاونت جهت تأمین منابع مالی این طرح و ریاست بیمارستان ولیعصر (عج) بروجن آقای دکتر امین احمدی، پرسنل زحمت‌کش آزمایشگاه بیمارستان ولیعصر (عج) بروجن و آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشکده‌ی پیراپزشکی شهید صدوقی یزد و سرکار خانم خردمند که در زمینه‌ی جمع‌آوری نمونه‌ها نهایت همکاری را داشتند، تقدیر و تشکر می‌شود.

طی هفته‌های ۳۷-۳۵ بارداری، انجام غربالگری لازم جهت بررسی زنان باردار از نظر وجود این باکتری، امری ضروری است.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی میکروبی‌شناسی به کد ۹۶۸۶ و کد اخلاق در پژوهش IR.SSU.MEDICINE.REC.1399.249 می‌باشد که در دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد به تصویب رسیده و با حمایت مالی

References

- Kim EJ, Oh KY, Kim MY, Seo YS, Shin JH, Song YR, et al. Risk factors for group B streptococcus colonization among pregnant women in Korea. *Epidemiol Health* 2011; 33: e2011010.
- Absalan M, Eslami G, Zandi H, Mosaddegh A, Vakili M, Khalili MB. Prevalence of recto-vaginal colonization of group B streptococcus in pregnant women. *J Isfahan Med Sch* 2013; 30(220): 2367-75. [In Persian].
- Verani JR, McGee L, Schrag SJ. Prevention of perinatal group B streptococcal disease--revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR Recomm Rep* 2010; 59(RR-10): 1-36.
- 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): 780-5. [In Persian].
- 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.
- Hall GS. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. 13th ed. Chicago, IL: American Society for Clinical Pathology; 2013. p. 885-6.
- 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.
- Sadeh M, Salehi Abargouei A, Azartoos N, Mirzaei F, Khalili MB. Distribution of Streptococcus agalactiae among Iranian women from 1992 to 2018: A systematic review and meta-analysis. *Jundishapur J Microbiol* 2020; 13(7): e102314.
- 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; 10: 336.
- Mee-Marquet N, Jouannet C, Domelier AS, Arnault L, Lartigue MF, Quentin R. Genetic diversity of Streptococcus agalactiae strains and density of vaginal carriage. *J Med Microbiol* 2009; 58(Pt 2): 169-73.
- Brimil N, Barthell E, Heindrichs U, Kuhn M, Luttkicken R, Spellerberg B. Epidemiology of Streptococcus agalactiae colonization in Germany. *Int J Med Microbiol* 2006; 296(1): 39-44.
- Seoud M, Nassar AH, Zalloua P, Boghossian N, Ezeddine J, Fakhoury H, et al. Prenatal and neonatal Group B Streptococcus screening and serotyping in Lebanon: Incidence and implications. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2010; 89(3): 399-403.
- Lee BK, Song YR, Kim MY, Yang JH, Shin JH, Seo YS, et al. Epidemiology of group B streptococcus in Korean pregnant women. *Epidemiol Infect* 2010; 138(2): 292-8.
- Milyani R, Abu Rokbah R. Incidence of vaginal and rectal carriage of Streptococcus agalactiae among pregnant and non pregnant women in Jeddah city, Saudi Arabia. *Advanced Scholars in Medicine* 2011; 1(4): 37-44.
- Sahraee S, Milani F, Roushan Z, Hedayati M, Rostami S, Shoja S, et al. The prevalence of rectovaginal colonization and antibiotic susceptibility pattern of Streptococcus agalactiae in pregnant women in Al-Zahra Hospital, Rasht, Iran. *Infect Dis Clin Pract* 2019; 27(3): 143-7.
- Mengist A, Kannan H, Abdissa A. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of anorectal and vaginal group B Streptococci isolates among pregnant women in Jimma, Ethiopia. *BMC Res Notes* 2016; 9: 351.
- 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.
- Shadbad MA, Kafil HS, Rezaee MA, Farzami MR, Dehkharghani AD, Sadeghi J, et al. Streptococcus agalactiae clinical isolates in Northwest Iran: Antibiotic susceptibility, molecular typing, and biofilm formation. *GMS Hyg Infect Control* 2020; 15: Doc23.
- Dashtizade M, Zolfaghari MR, Yousefi M, Nazari-Alam A. Antibiotic susceptibility patterns and prevalence of streptococcus Agalactiae rectovaginal

- colonization among pregnant women in Iran. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2020; 42(8): 454-9.
21. 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.
 22. Hanh TQ, Van Du V, Hien PT, Chinh DD, Loi CB, Dung NM, et al. Prevalence and capsular type distribution of group B *Streptococcus* isolated from vagina of pregnant women in Nghe An province, Vietnam. *Iran J Microbiol* 2020; 12(1): 11-7.
 23. Sadowy E, Matynia B, Hryniewicz W. Population structure, virulence factors and resistance determinants of invasive, non-invasive and colonizing *Streptococcus agalactiae* in Poland. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(9): 1907-14.
 24. Yasini M, Safari M, Khorshidi A, Moniri R, Mousavi SGA, 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. [In Persian].
 25. 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.
 26. Kao Y, Tsai MH, Lai MY, Chu SM, Huang HR, Chiang MC, et al. Emerging serotype III sequence type 17 group B streptococcus invasive infection in infants: the clinical characteristics and impacts on outcomes. *BMC Infectious Diseases* 2019; 19(1): 538.
 27. Lee MC, Kuo KC. The clinical implication of serotype distribution and drug resistance of invasive pneumococcal disease in children: A single center study in southern Taiwan during 2010-2016. *J Microbiol Immunol Infect* 2019; 52(6): 937-46.
 28. Zhao Z, Kong F, Zeng X, Gidding HF, Morgan J, Gilbert GL. Distribution of genotypes and antibiotic resistance genes among invasive *Streptococcus agalactiae* (group B streptococcus) isolates from Australasian patients belonging to different age groups. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14(3): 260-7.
 29. Genovese C, D'Angeli F, Di Salvatore 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.
 30. Dutra VG, Alves VM, Olendzki AN, Dias CA, de Bastos AF, Santos GO, et al. *Streptococcus agalactiae* in Brazil: Serotype distribution, virulence determinants and antimicrobial susceptibility. *BMC Infect Dis* 2014; 14: 323.

Identification of Capsular Serotype and Antibiotic Resistance of Streptococcus Agalactiae Isolated from Pregnant Women

Jalal Ahmadi¹, Maryam Sadeh², Mohammad Bagher Khalili³, Mahmood Vakili⁴

Original Article

Abstract

Background: Streptococcus agalactiae (Group B Streptococcus or GBS) is a natural resident of the gastrointestinal tract of healthy individuals, and is the most common cause of sepsis, meningitis, pneumonia, and severe diseases in newborns. Resistance to penicillin and macrolides, as selective antibiotics for the treatment of GBS infections, is increasing. In this study, we aimed to determine the capsule serotypes and antibiotic resistance pattern of Streptococcus agalactiae isolated from pregnant women referred to the Valiasr hospital in Borujen City, Iran.

Methods: In this descriptive cross-sectional study, a total of 760 vaginal samples were collected from pregnant women in the period between 35-37 weeks of gestation. Following conventional phenotypic evaluation and GBS confirmation, GBS isolates resistance to antibiotic disc was assessed through disk diffusion test. Finally, capsular serotypes were determined using multiplex polymerase chain reaction (multiplex PCR) method.

Findings: Out of 760 pregnant women participating in this study, 70 (9.2%) were carriers of GBS. Our finding disclosed that the lowest and highest resistance among GBS isolates were related to penicillin (0%), and tetracycline (92.85%), respectively. The most common capsular serotypes were III (45.71%), followed by II (17.14%), VI (14.28%), Ib (11.42%), V (8.57%), and Ia (2.85%), respectively.

Conclusion: In this study, we detected low prevalence of GBS, as well as low level resistance to macrolides. In addition, predominant capsular serotype was III.

Keywords: Streptococcus agalactiae; Antibiotic resistance; Pregnant women; Serotyping, Streptococcus group B

Citation: Ahmadi J, Sadeh M, Khalili MB, 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.

1- MSc Student, Department of Microbiology, School of Medicine AND Reproductive Immunology Research Center, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Yazd, Iran

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

3- Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Yazd, Iran

4- 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, Yazd, Iran; Email: sadeh_m20@yahoo.com