

تشخیص حاملین استرپتوکوک های گروه B حامل ژن (sep B) در زنان باردار شهرستان کرمانشاه با روش فنوتیپی و Colony PCR

صحرا بهروش^۱، فاطمه کشاورزی^{۲*}، فرشید رئیسی^۳

(۱) گروه میکروبیولوژی، واحد علوم و تحقیقات کردستان، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

(۲) گروه ژنتیک، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

(۳) گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۰۲

تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۳/۰۸

چکیده

مقدمه: استرپتوکوک گروه B (GBS) یا آگالاکتیه یکی از مهم ترین علل عفونت میان نوزادان زودرس است. باکتری از طریق مادر به بچه منتقل می شود و منجر به مرگ نوزاد می گردد. دیدگاه مطالعه حاضر تشخیص (GBS) میان نمونه های کلینیکال زنان باردار در استان کرمانشاه به روش Colony PCR و سپس مقایسه روش تشخیصی فنوتیپیک و ژنوتیپیک بود.

مواد و روش ها: صد خانم باردار با سن بارداری ۳۰ تا ۳۸ هفته در طی ۴ ماه از فروردین ۱۳۹۳ از مراکز بیمارستانی استان کرمانشاه انتخاب شدند. نمونه ها از ترشحات واژینال زنان گرفته شد و با محیط کشت استاندارد (THB) تایست هویت برات و بلاداگار و روش colony PCR برای ژن SCP B ارزیابی شدند.

یافته های پژوهش: نتایج حاصل از مطالعه نشان داد، ارزیابی اگر به روش فنوتیپیک باشد، تنها ۵ درصد نمونه ها ناقل استرپتوکوک گروه B بود ولی وقتی کلیه نمونه ها با روش colony PCR ارزیابی شد، درصد ناقل نمونه ها به ۷ درصد افزایش یافت. هم چنین نتایج تست آنتی بیوگرام نشان داد، بیشترین مقاومت مربوط به اریترومایسین بود و آنتی بیوتیک مناسب جهت درمان ابتدا پنی سیلین و سپس ونکومایسین ارزیابی شد.

بحث و نتیجه گیری: بر اساس نتایج، شدت انتشار GBS در زنان باردار کرمانشاهی بالا است. به علاوه، روش Colony PCR که در آن عملیات استخراج DNA از کلنی های رشد یافته حذف شده است می تواند یک روش سریع، قابل اعتماد و به صرفه تر برای تشخیص ناقلین باشد.

واژه های کلیدی: استرپتوکوک گروه B (آگالاکتیه)، colony PCR، ژن SCP B، تست آنتی بیوگرام

* نویسنده مسئول: گروه ژنتیک، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

Email: gol.keshavarzi@gmail.com

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

گیرند. با توجه به مطالب ذکر شده، شناخت داروهای موثر علیه این باکتری موثر می باشد (۵-۳). در کشورهای در حال توسعه هر ساله حدود ۴ میلیون نوزاد در اثر ابتلاء به سپسیس در هفته اول زندگی، می میرند (۶). هم چنین در کشورهای توسعه یافته سپسیس یکی از عوامل مرگ در نوزادان به شمار می رود (۷،۸). تخمین زده شده که حدود ۳۰-۲۰ درصد از زنان باردار در جهان، به ویژه در جنوب شرق آسیا (۹-۱۲) این باکتری را در واژن یا رکتوم خود کلونیزه می کنند. در آمریکا طبق پیشنهاد مرکز کنترل بیماری ها (CDC)، از زنان باردار ۳۷-۳۵ هفته غربالگری جهت شناسایی افراد ناقل این باکتری به عمل می آید (۱۳) و زنان بیمار تحت پروفیلاکسی دارویی (آنتی بیوتیک) قرار می گیرند. در واقع تشخیص و شناخت داروهای موثر علیه این باکتری در حفظ سلامت زنان باردار اهمیت زیادی دارد (۱۴،۱۵). روش های تشخیص ناقلین این باکتری مختلف است، که در این مطالعه از دو روش کشت و Colony PCR استفاده شد. روش Colony PCR (۱۶) روشی برای تکثیر قطعه DNA با PCR است که با استفاده از کلنی ارگانسیم و بدون نیاز به استخراج DNA انجام می شود.

مواد و روش ها

نمونه گیری: از واژن ۱۰۰ خانم باردار که دارای سن بارداری ۳۵ هفته به بالا بودند و جهت مراقبت های زایمان به بیمارستان شهید چمران کنگاور و بیمارستان معتضدی کرمانشاه، مراجعه کرده بودند، با سوآپ استریل نمونه گیری شد و سپس نمونه ها به محیط کشت اولیه Todd Hewith Broth انتقال یافت.

تست های تشخیصی و افتراقی: نمونه ها بر روی محیط بلاد آگار حاوی خون گوسفندی ۵ درصد کشت داده شدند و سپس در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرارداده شدند. بعد از رشد باکتری ها در محیط کشت؛ رنگ آمیزی گرم از نمونه ها صورت گرفت. پلیت های حاوی باکتری گرم مثبت که پس از رنگ آمیزی به رنگ قرمز مایل به صورتی بودند برای انجام تست های افتراقی جداسازی

استرپتوکوک، جنس مهمی از باکتری های خانواده استرپتوکوکاسه و شاخه فرمیکوتز می باشند که به شکل کروری بوده مدت زمان انکوباسیون باکتری بین ۱ تا ۳ روز به طول می انجامد (۱). استرپتوکوک ها بر اساس ویژگی های همولیتیک (همولیز خون) به ۳ دسته طبقه بندی می شوند: ۱) آلفا همولیتیک: همولیز ناقص آگار خوندار را سبز رنگ می کند، ۲) بتاهمولیتیک: همولیز کامل طوری که ناحیه ای عاری از گلبول های قرمز در اطراف کلونی باکتری در آگار خوندار دیده می شود، (شامل استرپتوکوک های گروه a و b و ۳) گاما همولیتیک که هیچ نوع همولیزی تولید نمی کنند (۲). استرپتوکوک گروه b یا استرپتوکوک آگالاکتیه یا (group B streptococcus) GBS جزء بتا همولیتیک ها هستند و به ۹ سروتایپ بر اساس پلی ساکراید کپسولی تقسیم بندی (Ia، Ib، II-VIII) می شوند (۳). این ارگانسیم تا اواخر دهه ۱۹۶۰ برای اغلب پزشکان ناشناخته باقی مانده بود و از این زمان به بعد، باکتری مزبور در آمریکا و اروپا به عنوان یک عامل عفونت زا در نوزادان و مادران آن ها مورد توجه قرار گرفت (۴). تقریباً ۴۰-۱۰ درصد از زنان باردار که باکتری GBS در بدن آن ها کلونیزه شده، هم در رکتوم و هم در واژن خود حامل این باکتری هستند و ۷۰-۸۰ درصد این زنان GBS را به نوزادان خود منتقل می کنند (۵). برای این که یک نوزاد حین عبور از کانال زایمان با استرپتوکوک آگالاکتیه کلونیزه شود ریسک فاکتورهایی وجود دارد که شانس کلونیزه شدن را بالا می برد: ۱) در دستگاه ژنیتال تعداد زیادی استرپتوکوک گروه b داشته باشد، ۲) زایمان زودرس داشته باشد (۱،۳)، ۳) چندین ساعت قبل از زایمان پرده های جنینی یا آمنیوتیک دچار پارگی زودرس شوند، ۴) در حوالی زمان زایمان مادر تب داشته باشد، ۵) اگر نوزادی که متولد می شود، آنتی بادی ساخته شده توسط مادر را از او گرفته باشند از این بیماری مصون می ماند. بنا بر این تمام زنان باردار، باید در هفته ۳۷-۳۵ بارداری تحت کشت روتین آنوزینتال قرار گیرند، اگر GBS مثبت بود باید حداقل ۴ ساعت قبل از زایمان به صورت داخل وریدی تحت تزریق آنتی بیوتیک قرار

دیسک باسیتراسین، اوتوپچین و SXT (تری متوپریم سولفامتوکسازول) و تست بایل اسکولین بود. برای جدا کردن دقیق ایزوله GBS تست CAMP و باسیتراسین و نیز استفاده از ۳ دیسک باسیتراسین، اوتوپچین و SXT جزء تست های اختصاصی می باشند.

Colony PCR. در این مطالعه یک قطعه اختصاصی از ژن SCPB استرپتوکوک گروه B به طول ۲۵۵ جفت باز تکثیر شد. در جدول شماره ۱ توالی و مشخصات پرایمرهای مورد استفاده جهت قطعه مورد نظر ذکر شده است.

شدند. از تست کاتالاز برای جداسازی استرپتوکوک از استافیلوکوک استفاده شد، ایزوله های که حاوی استرپتوکوک بودند کاتالاز منفی و جداسازی شدند. سپس از تست های اختصاصی تشخیصی برای شناسایی GBS استفاده گردید. این تست های تشخیصی شامل: بررسی همولیز در اطراف کلنی روی محیط کشت بلاد آگار که به صورت هاله ای شفاف است، تست نمک طعام ۶/۵ درصد، تست هیپورات سدیم که می تواند هیپورازسدیم را هیدرولیز نماید، تست CAMP (ایجاد سر فلش مانند در محل تقاطع کشت دو باکتری استاف و استرپت)، حساسیت به ۳

جدول شماره ۱. پرایمرهای طراحی شده رفت و برگشت ژن SCP B برای انجام colony PCR

| نوع | آدرس | پرایمر |
|-----|------------|------------------------------|
| P2F | 217 to 238 | 5'-ACAATGGAAGGCGCTACTGTTC-3' |
| P3R | 471 to 450 | 5'ACCTGGTGTGTTGACCTGAACTA-3' |

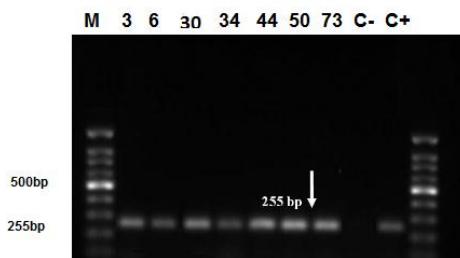
تشکیل شده بر روی ژل آگاروز با ژل داک مشاهده گردید.

تست آنتی بیوگرام: با استفاده از روش دیسک دیفیوژن طبق پروتوکل استاندارد و استفاده از دیسک آنتی بیوتیک های اریترومایسین، پنی سیلین، ونکومایسین و کلیندامایسین انجام شد و میزان و مقاومت و حساسیت به این آنتی بیوتیک ها مشخص گردید.

یافته های پژوهش

از کل نمونه ها، ۵ نمونه استرپتوکوک آگالاکتیکه از طریق تست های تشخیصی افتراقی و ۷ نمونه از طریق Colony PCR جدا گردید(شکل شماره ۲).

برای انجام colony PCR ژن SCP B، ابتدا Master mix تهیه شد، سپس از کلونی های رشد یافته بر روی محیط اختصاصی چند کلونی به درون ماستر میکس انتقال یافت و مخلوط به دست آمده بعد از مخلوط کردن کامل در ترموسایکلر قرار داده شد. برنامه ترموسایکلر شامل: ۵ دقیقه دمای ۹۵ درجه سانتی گراد دناتوراسیون اولیه سپس ۳۵ چرخه با برنامه دناتوراسیون ۴۵ ثانیه دمای ۹۵ درجه سانتی گراد، اتصال پرایمرها ۴۵ ثانیه دمای ۵۴ درجه، تکثیر و گسترش ۴۵ ثانیه دمای ۷۲ درجه سانتی گراد و سرانجام ۸ دقیقه دمای ۷۲ درجه برای اکستنشن نهایی بود. سپس محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد حاوی و رنگ اتیدیوم بروماید الکتروفورز شد و باندهای



شکل شماره ۲. نتایج حاصل از تکثیر DNA با روش Colony PCR

مقاومت دارویی استرپتوکوک آگالاکتیه نسبت به آنتی بیوتیک های اریترومايسين، پنی سیلین، ونکومايسين و کلیندامایسین به ترتیب ۵۷/۱۴ درصد، ۱۴/۲۸ درصد، ۱۴/۲۸ درصد و ۲۸/۵۷ درصد بود (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲. فراوانی و درصد مقاومت و حساسیت اندازه گیری شده از ایزوله های استرپتوکوک آگالاکتیه

جدول شماره ۲. فراوانی و درصد مقاومت و حساسیت اندازه گیری شده از ایزوله های استرپتوکوک آگالاکتیه

| دیسک آنتی بیوتیک | میزان مقاومت و حساسیت | | | | | |
|------------------|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | مقاوم | | متوسط | | حساس | |
| | تعداد | درصد | تعداد | درصد | تعداد | درصد |
| اریترومايسين | ۴ | ۵۷/۱۴ | ۱ | ۱۴/۲۸ | ۲ | ۲۸/۵۷ |
| پنی سیلین | ۱ | ۱۴/۲۸ | ۲ | ۲۸/۵۷ | ۴ | ۵۷/۱۴ |
| ونکومايسين | ۱ | ۱۴/۲۸ | ۰ | ۰ | ۶ | ۸۵/۷۱ |
| کلیندامایسین | ۲ | ۲۸/۵۷ | ۰ | ۰ | ۵ | ۷۱/۴۲ |

مقاومت دارویی استرپتوکوک آگالاکتیه نسبت به آنتی بیوتیک های اریترومايسين، پنی سیلین، ونکومايسين و کلیندامایسین به ترتیب ۵۷/۱۴ درصد، ۱۴/۲۸ درصد، ۱۴/۲۸ درصد و ۲۸/۵۷ درصد بود (جدول شماره ۲).

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه از واژن ۱۰۰ خانم باردار در استان کرمانشاه نمونه گیری شد که از این تعداد طی بررسی فنوتیپی ۵ نفر (۵ درصد) و طی Colony PCR ۷ مورد (۷ درصد) استرپتوکوک بتاهمولیتیک گروه B از واژن ایزوله گشت. عواملی نظیر بیماری زمینه ای، تعداد سقط، فشارخون، نوع روش جلوگیری، سن افراد و بیماری های تناسلی تاثیری بر میزان کلونیزاسیون واژینال با استرپتوکوک بتاهمولیتیک گروه B نداشت. استرپتوکوک آگالاکتیه از مهم ترین عوامل ایجاد بیماری، مرگ و میر نوزادان و تب های بعد از زایمان مادران محسوب می شود (۱۷). عفونت می تواند از مادر آلوده در حین زایمان به نوزاد منتقل شود. یکی از عوامل شایع ایجاد مننژیت در نوزادان و هم چنین بیماری های مهاجم در زنان باردار (پارگی زودرس کیسه آب)، استرپتوکوکوس های گروه B (استرپتوکوکوس آگالاکتیه) می باشند (۱۸). این باکتری برای اولین بار در سال ۱۹۳۳ به عنوان مهم ترین عامل باکتری (عفونت خونی) نوزادان شناخته شد (۱۹). هم اکنون ۴۰-۱۰ درصد زنان به این آلودگی مبتلا بوده و اولین دلیل مرگ و میر نوزادان تازه متولد شده است. بنا بر این یک روش سریع برای شناسایی ارگانیزم در زنان باردار در هنگام زایمان مورد نیاز است (۲۰). در مطالعه ای که به بررسی اپیدمیولوژی ابتلا به استرپتوکوک آگالاکتیه در

زنان باردار در سال ۱۳۹۰ توسط روناک بختیاری و همکاران صورت گرفت، از مجموع ۲۵۰ نفر ۲۱ نفر آن ها (۸/۴ درصد) نتایج کشت از واژن و رکتوم مثبت بود و در آزمون PCR کلونیزاسیون استرپتوکوک گروه B در ۲۴ نفر (۹/۶ درصد) مورد خانم باردار از واژن و رکتوم مثبت بود (۲۱) که با نتایج ما هماهنگی دارد. طبق نظر Mc. Gregor و همکاران (۲۲) تمامی زنان باردار می بایستی در هفته های اول بارداری برای تشخیص واژینوز باکتریایی و درمان به موقع آن اقدام نمایند.

در سال ۲۰۱۰ ورنی و همکاران به بررسی باکتری های استرپتوکوک آگالاکتیه (GBS) حاوی ژن Scp B به روش Colony PCR پرداخت، این ژن پپتیداز سطحی C5a را کد می کنند (ساختار پپتیدازهای سطحی هم چنین، ژن های کدکننده این پپتیدازها در گونه های مختلف جنس استرپتوکوکوس متفاوت اند که از این طریق می توان نوع گونه های این جنس از باکتری را به راحتی شناسایی کرد (۲۳). در مطالعه دیگری از روش PCR و کشت و شناسایی آنتی ژن جهت حاملین GBS استفاده نمودند که ۶۰۵ نمونه تست شده به وسیله این روش ها با روش کشت ۹۶ نمونه (۱۶ درصد) و با روش PCR (ژن Cfb) ۱۷۱ نمونه (۲۸ درصد) و با استفاده از روش PCR (ژن SCP B) ۲۲۶ نمونه مثبت (۳۷ درصد) به دست

پنی سیلین و مقاومت به سایر آنتی بیوتیک ها در حال افزایش است.

متفاوت بودن میزان مقاومت به اریترومايسين در گزارشات مختلف می تواند ناشی از تفاوت در مدت زمان استفاده از این دارو و روش های مختلف انجام آزمایشات سنجش مقاومت جمعیت های متنوع مورد مطالعه و بررسی بر روی بیماران با سابقه متفاوت آنتی بیوتیک درمانی باشد. مقاومت هم زمان سویه های استرپتوکوک آگالاکتیه به سایر آنتی بیوتیک ها درمان آن ها را با محدودیت روبرو کرده است و جهت انتخاب آنتی بیوتیک مناسب به منظور جلوگیری از بروز مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های موثر تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی نیازمند مطالعه گسترده تر با نمونه های بیشتر و مراکز درمانی مختلف می باشد که مطالعه حاضر به این منظور انجام شد. استرپتوکوک آگالاکتیه نسبت به ونکومايسين حساسیت بیشتری دارد پس می تواند برای افرادی که به پنی سیلین حساس هستند داروی مناسبی جهت درمان باشد. بر اساس نتایج، شدت انتشار GBS در زنان باردار کرمانشاهی بالا است. به علاوه، روش PCR Colony که در آن عملیات استخراج DNA از کلنی های رشد یافته حذف شده است می تواند یک روش سریع، قابل اعتماد و به صرفه تر برای تشخیص ناقلین باشد.

سپاسگزاری

مقاله حاضر نتیجه کار پایان نامه ارشد دانشجوی رشته میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج است. از کلیه دوستانی که در انجام این پایان نامه همکاری داشتند، تشکر می گردد.

References

1. Chuang PK, Wang SM, Lin HC, Cho YH, Ma YJ, Ho TS, Shen CF, Liu CC. The trend of macrolide resistance and emm types of group A streptococci from children at a medical center in southern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect* 2015; 48:160-7. DOI: 10.1016/j.jmii.2013.08.015.

آوردند. در این مطالعه حساسیت و ویژگی PCR با ژن SCP B به ترتیب ۹۹/۶ و ۱۰۰ درصد بوده در مورد PCR با ژن Cfb به ترتیب ۷۵/۳ و ۹۹/۵ درصد بود و حساسیت و ویژگی شناسایی آنتی ژن ۵۷/۳ و ۹/۵ درصد و برای کشت ۴۲/۳ و ۱۰۰ درصد گزارش گردید (۲۴). در مطالعه حاضر به بررسی استرپتوکوک های آگالاکتیه، حامل ژن SCP B پرداخته شد. روش به کار رفته Colony PCR بود، که در این روش به طور مستقیم از کلنی های رشد یافته باکتریایی، کلنی برداشت شده و به تیوب های حاوی ماستر میکس اضافه می شود. بنا بر این هم میزان DNA بیشتر است و هم هزینه پایین تر و دقت کار بیشتر می باشد. بر اساس نتایج مشاهده شده ۷ درصد افراد مورد بررسی دارای کلونیزاسیون باکتری استرپتوکوک آگالاکتیه بودند که باید قبل از زایمان تحت درمان آنتی بیوتیکی قرار گیرند. بروز مقاومت به آنتی بیوتیک های مختلف در سویه های استرپتوکوکوس آگالاکتیه مشکلات فراوانی در درمان بیماران ناشی از این ارگانیزم ها در نقاط مختلف جهان از جمله ایران ایجاد کرده است. جهت درمان مناسب و کنترل عفونت های بیمارستانی نیاز به دانستن الگوی مقاومت استرپتوکوکوس آگالاکتیه می باشد. زنان بارداری که دارای کلونیزاسیون باکتری استرپتوکوک آگالاکتیه در واژن خود هستند باید ۴ ساعت قبل از زایمان تحت درمان آنتی بیوتیکی قرار گیرند. در مطالعه حاضر، مقاومت دارویی استرپتوکوک آگالاکتیه نسبت به آنتی بیوتیک های اریترومايسين، پنی سیلین، ونکومايسين و کلیندامایسین بررسی شد و نتایج آن به ترتیب ۵۷/۱۴ درصد، ۱۴/۲۸ درصد، ۱۴/۲۸ درصد و ۲۸/۵۷ درصد در جامعه مورد مطالعه بوده است. نتایج نشان می دهد که مقاومت به اریترومايسين و

2. Olivieri R, Morandi M, Zanchi A, Tordini G, Pozzi G, Luca A, Montagnani F. Evolution of macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes* over 14 years in an area of central Italy. *J Med Microbiol* 2015; 64:1186-95. DOI: 10.1099/jmm.0.000146.

3. Ksia S, Smaoui H, Hraoui M, Bouafsoun A, Boutiba I, Kechrid A. molecular

- characteristics of erythromycin resistant streptococcus pyogenes strains isolated from children patients in Tunisia. *Microb Drug Res J* 2017; 23:633-9. DOI: 10.1089/mdr.2016.0129.
4. Bahnan W, Hashwa F, Araj G, Tokajian S. emm typing, antibiotic resistance and PFGE analysis of *Streptococcus pyogenes* in Lebanon. *J Med Microbiol* 2011; 60:98-101. DOI: 10.1099/jmm.0.023317-0.
5. Mijac V, Ranin L, Markovic M, Heeg C, Reinert RR, Opavski N. Distribution of emm types among group a Streptococcal isolates from Serbia. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16:295-8. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.02823.x.
6. Gherardi G, Florio L, Lorino G, Fico L, Dicuonzo G. Macrolide resistance genotypes and phenotypes among erythromycin resistant clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci Italy. *FEMS Immunol Med Microbiol J* 2009; 55:62-7. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2008.00499.x.
7. Chang H, Shen X, Fu Z, Liu L, Shen Y, Liu X, Yu S, Yao K, Zhao C, Yang Y. Antibiotic resistance and molecular analysis of *Streptococcus pyogenes* isolated from healthy schoolchildren in China. *Scand J Infect Dis.* 2010; 42:84-9. DOI: 10.3109/00365540903321598.
8. Dundar D, Sayan M, Tamer GS. Macrolide and tetracycline resistance and emm type distribution of *Streptococcus pyogenes* isolates recovered from Turkish patients. *Microb Drug Res* 2010; 16:279-84. DOI: 10.1089/mdr.2010.0021.
9. Zheng MH, Jiao ZQ, Zhang LJ, Yu SJ, Tang GP, Yan XM, et al. Genetic analysis of group a streptococcus isolates recovered during acute glomerulonephritis outbreaks in Guizhou province of China. *J Clin Microbiol* 2009; 47:715-20. DOI: 10.1128/JCM.00747-08.
10. Montes M, Tamayo E, Mojica C, Garcíaarenzana JM, Esnal O, Trallero E. What causes decreased erythromycin resistance in *Streptococcus pyogenes*? Dynamics of four clones in a Southern European region from 2005 to 2012. *Antimicrob Chemother J* 2014; 69:1474-82. DOI: 10.1093/jac/dku039.
11. Gherardi G, Petrelli D, Luca MC, Pimentel F, Bernaschi P, Repetto A, et al. Decline in macrolide resistance rates among *Streptococcus pyogenes* causing pharyngitis in children isolated in Italy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2015; 34:1797-802. DOI: 10.1007/s10096-015-2414-x.
12. Koh E, Kim S. Decline in erythromycin resistance in group A Streptococci from acute pharyngitis due to changes in the emm Genotypes rather than restriction of antibiotic use. *Korean J Lab Med* 2010; 30:485-90. DOI: 10.3343/kjlm.2010.30.5.485.
13. Wajima T, Morozumi M, Chiba N, Shouji M, Iwata S, Sakata H, et al. Associations of macrolide and fluoroquinolone resistance with molecular typing in *Streptococcus pyogenes* from invasive infections, 2010-2012. *Int J Antimicrob Age* 2013; 42:447-9. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2013.06.022.
14. Michos A, Koutouzi FI, Tsakris A, Chatzichristou P, Koutouzis EI, Daikos GL, et al. Molecular analysis of *Streptococcus pyogenes* macrolide resistance of paediatric isolates during a 7 year period 2007-13. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71:2113-7. DOI: 10.1093/jac/dkw116.
15. Huang CY, Lai JF, Huang IW, Chen PC, Wang HY, Shiao YR, et al. Epidemiology and molecular characterization of macrolide resistant *Streptococcus pyogenes* in Taiwan. *Clin Microbiol J* 2014; 52:508-16. DOI: 10.1128/JCM.02383-13.
16. Michos AG, Bakoula CG, Braoudaki M, Koutouzi FI, Roma ES, Pangalis A, et al. Macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes* prevalence resistance determinants and emm types. *Diagn Microbiol Infect Dis J* 2009; 64:295-9. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2009.03.004.
17. Ardanuy C, Domenech A, Rolo D, Calatayud L, Tubau F, Ayats J, et al. Molecular characterization of macrolide- and multidrug resistant *Streptococcus pyogenes* isolated from adult patients in Barcelona, Spain 1993-2008. *Antimicrob Chemother J* 2010; 65: 634-43. DOI: 10.1093/jac/dkq006.
18. Athanasios G, Michosa GB. Macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes* prevalence resistance determinants and emm types. *Diagnostic Microbiol Infect Dis* 2009; 64:295-9. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2009.03.004.

19. Mohanasoundaram KM. The prevalence of inducible clindamycin resistance among gram positive cocci from various clinical specimens. *Clin Diag Res J* 2011; 5: 38-40. DOI: 10.7860/JCDR/2012/4877.2671
20. Ciraj AM. Clindamycin resistance among clinical isolates of staphylococci. *Indian J Pathol Microbiol* 2009; 52: 49-51. DOI: 10.4103/0377-4929.44963
21. Bakhtiari R, Soltandallal M, Zaemiyazdi J, Fallah J, Amirmozaffari N, Pourmand M, et al. Evaluation of PCR method for diagnosis of group B Streptococcus carriage in pregnant women. *Iran J Med Microbial J* 2007; 1:1-8. DOI: 10.4103/0255-0857.19908.
22. Mcgregor JA, French JI. Bacterial vaginosis in pregnancy. *Obstet Gynecol Surv J* 2000; 55: 1-19. DOI: 10.1093/epirev/mxf008.
23. Verani JR, Mcgee L, Schrag SJ. Division of bacterial diseases NCFI respiratory diseases CFDC prevention of perinatal group B Streptococcal disease revised guidelines from CDC. *MMWR Rec Rep* 2010; 59:1-36. DOI: 10.3343/alm.2016.36.1.9.

Detection of GBS(scpB gene) Carriers in Pregnant Women in Kermanshah By phenotypic and Colony PCR Methods

Behrvash S¹, Keshavarzi F^{2*}, Raissi F³

(Received: February 20, 2017

Accepted: May 29, 2017)

Abstract

Background: Group B Streptococcus (GBS) or agalactia is an important cause of infection among the early newborns. The bacterium is transmitted from mother to child and most often leads to infant death. The goal of this study was to detect GBS among clinical samples of pregnant women in Kermanshah province, using Colony PCR and standard microbiological culture and then to compare the phenotypic and genotypic methods against each other.

Materials & methods: One hundred cases aged at 30- 38 weeks of life were selected during 4 months from April 2014 on at health centers of Kermanshah province. The samples were taken from the women's vaginal secretions and tested by standard culture using basic culture

medium Todd- Hewitt broth, blood agar and Colony- PCR targeting scpB gene.

Findings: The results showed phenotypic test among 100 samples, 5 (5%) as carriers of group B streptococci, compared to 7 patients (7%) by Colony PCR test.

Conclusion & discussion: According to our study, the rate of GBS incidence is high in women of Kermanshah. Furthermore, the Colony PCR method that eliminates DNA extraction process can be a rapid, reliable and low cost method to detect the carrier.

Keywords: group B Streptococcus (agalactia), Colony PCR, scp B gene

1. Dept of Biology, Kurdistan Science and Research Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

2. Dept of Biology, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

3. Dept of Pathology, Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Science, Kermanshah, Iran

*Corresponding author Email: gol.keshavarzi@gmail.com