

بررسی شیوع استرپتوکوک گروه B در مجاری تناسلی زنان باردار ۳۷-۲۸ هفته

دکتر نور امیر مظفری* - دکتر ماندان منصور قناعی** - دکتر بابک صدر نوری*** - لیلا فرهادی طولی****

*دانشیار گروه میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

** استادیار گروه زنان، دانشگاه علوم پزشکی گیلان

*** دکتری علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان

**** کارشناس ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد لاهیجان

تاریخ دریافت مقاله: ۸۴/۱۰/۳

تاریخ پذیرش: ۸۵/۲/۲۴

چکیده

مقدمه: استرپتوکوک گروه B به دلیل تمایل زیاد به ایجاد کولونیزاسیون در مجاری تناسلی زنان باردار، به عنوان یکی از عوامل زایمان زودرس شناخته شده است. مهمتر آن که این باکتری در نوزادان عفونت‌های خطرناکی مثل منزیت و سپتی سمی ایجاد می‌کند که مرگ و میر بالایی به همراه دارد. عفونت‌های استرپتوکوکی گروه B در نوزادان نارس در مقایسه با نوزادان رسیده بیشتر است.

هدف: تعیین شیوع استرپتوکوک گروه B در مجاری تناسلی زنان باردار ۲۸-۳۷ هفته.

مواد و روش‌ها: نمونه‌ها از زن باردار ۲۸-۳۷ هفته که در حدود یک ماه قبل از آن هیچ آنتی‌بیوتیکی مصرف نکرده بودند و از تیر تا پایان شپریور ماه سال ۱۳۸۴ برای کنترل به بخش بره ناتال و کلینیک تخصصی بیمارستان الزهراء رشت مراجعه کرده بودند بست آمد. از هر زن سه سواب واژنال تهیه شد. اولین سواب برای تهیه لام مستقیم و دومی به ۳۰۰ محبیت تاد هویت براث معمولی (بدون آنتی‌بیوتیک) و سومی به ۳۰۰ محبیت تاد هویت براث انتخابی که حاوی جنتامایسین و نالیدیکسیک اسید بود منتقل شد. بعداز ۲۴ ساعت اکتوبیه شدن در درجه سانتیگراد و دی‌اکسیدکربن ۵٪ نتایج کشت مقایسه شد. برای شناسایی انواع جدا شده، آزمون‌های تشخیصی اختصاصی شامل: نوع همولیز، هیدرولیز بایل اسکولین، آزمون کمپ، حساسیت به دیسک‌های باستراتیسین، اپتوژین، تری‌متوبریم و سولفا متوكسازول، هیدرولیز هیبورات، بکار رفت.

نتایج: از ۱۰۰ نمونه کشت واژن زنان باردار ۲۸-۳۷ هفته، ۱۵ مورد استرپتوکوک گروه B، ۱۵ مورد استرپتوکوک ویریدانس، ۱ مورد استرپتوکوک گروه A، ۱ مورد استرپتوکوک پنومونیه، ۵ مورد استرپتوکوک‌های F, C, G, D و ۳۰ مورد استرپتوکوک گروه D جدا شد. علاوه‌بر انواع استرپتوکوک‌ها، سایر میکرووارگانیسم‌های واژن با رتک آمیزی گرم و مشخصات کلی روی محیط آگار خونی (Blood agar) و محیط کشت اثوزین متیلن بلو (EMB) شناسایی شدند، که از ۱۰۰ مورد، ۱۰۰ نمونه باسیل‌های گرم مثبت، ۴۵ مورد باسیل‌های گرم منفی، ۶۰ مورد استافیلوکوک و ۴۰ مورد مخمر جدا شد.

نتیجه‌گیری: ۱۵٪ ناقل بودن در خانه‌های باردار ۲۸-۳۷ هفته این احتمال را پیش می‌آورد که تعدادی از زایمان‌های زودرس و همچنین تعدادی از عفونت‌های نوزادان در نتیجه این ارگانیسم بوجود آیند.

کلید واژه‌ها: آستنی / استرپتوکوک گروه بی / عفونت / مجرای ادرار / مرگ و میر نوزادان

مقدمه

نهایت همین ترکیب‌ها انقباض رحم و زایمان زودرس را سبب شوند(۲).

نوزادانی که از مادران حامل GBS متولد می‌شوند می‌توانند این ارگانیسم را یا از مجرای تناسلی مادر در رحم یا هنگام عبور از کانال زایمان کسب کنند. معمولاً ۱۰-۳۰٪ زنان باردار حامل GBS هستند که ۱-۲٪ از آنها این

استرپتوکوک گروه (Group B Streptococci; GBS) قادر است که به طور گسترده مجرای مجاری تناسلی زنان حامله را کولونیزه کرده و از راه پرده‌های کوریوآمنیونی وارد مایع آمنیون شود. به دنبال آن، ماکروفازهای فعال شده در جهت تولید ایترلوقین ۱-۶، عامل نکروز تومور و پروستاگلاندین‌های E_2 و $F_2\alpha$ تحریک شوند و در

گرمخانه با حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد قرار می گرفت تا ارگانیسم فرصت کافی برای تکثیر در نمونه های حاوی تعداد کم میکروب را داشته باشد. همچنین لام مستقیم، به روش گرم رنگ آمیزی شده و در زیر میکروسکوپ از نظر تعداد W.B.C, R.B.C, سلول های اپیتیال، وجود تریکوموناس، مخمر و باکتری مورد بررسی قرار می گرفت. بعداز ۲۴ ساعت نمونه ها روی محیط آگار خونی (Blood agar)، تهیه شده از خون بدون فیبرین گوسفند کشت داده می شد تا کلنی های ایزوله بدمست آید. همچنین برای باکتری های گرم منفی محیط کشت ائوزین متیلن بلو (EMB) نیز کشت داده می شدند. پلیت های کشت داده شده در جار شمع دار به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه با حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده می شدند. بعداز ۲۴ ساعت از تمام کلنی ها مخصوصاً آنهایی که همولیز داشتند یک لام گرم، تهیه می شد و کلنی های به شکل زنجیر بر محیط نوترینت آگار برای انجام تست کاتالاز به مدت ۲۴ ساعت کشت داده می شد. در صورت منفی بودن آزمایش کاتالاز، کلنی برای مطالعه بعدی انتخاب می شد یعنی آزمون های تشخیص اختصاصی استرپتوکوک گروه B انجام می شد که شامل؛ (۱) نوع همولیز، (۲) هیدرولیز بایل اسکولین (Bile esculin)، (۳) آزمون کمپ، (۴) حساسیت به باسیتراسین، اپتوچین و تری متیپریم و سولفامتوکسازول و (۵) تست هیدرولیز هیپورات بود.

نتایج

از نمونه واژن ۱۰۰ خانم باردار ۲۸-۳۷ هفتة با آزمون های تشخیصی ۶۷ مورد استرپتوکوک جدا شد. علاوه بر آن سایر میکروارگانیسم های واژن با رنگ آمیزی و مشخصات کلنی از محیط بلادآگار (Blood agar) و محیط کشت ائوزین متیلن بلو (EMB) بدست آمد که در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است. چنانچه در نمودار مشخص است بیشترین مورد مربوط به باسیل های گرم مثبت می باشد.

ارگانیسم را به نوزادان خود منتقل می کنند (۶و۸). GBS قادر است عفونت هایی مثل سپتی سمی، منثیت، سلولیت، کثیر یکیویت، پنومونی، آدنیت، عفونت های استخوانی یا مفصلی و اوتيت میانی را در نوزادان ایجاد کنند. از این عفونت ها سپتی سمی و منثیت بیش از بقیه، زندگی کودکان را تهدید می کنند و به رغم درمان، میزان مرگ و میر بالایی دارند (۶).

حقیقان سراسر جهان تعیین میزان بروز حاملان GBS در زنان حامله را به عنوان اولین گام در راه شناسایی این ارگانیسم مطرح می کنند و چون هنوز در اکثر آزمایشگاه های ایران روش های تشخیص برای این ارگانیسم به طور دقیق و کامل بکار برده نمی شود در این پژوهش هدف های زیر در نظر گرفته شدند:

- ۱- تعیین شیوع GBS در زنان باردار ۲۸-۳۷ هفتة
- ۲- ارائه روشی آسان و در عین حال مطمئن برای تشخیص آزمایشگاهی GBS در زنان حامله.

مواد و روش ها

این تحقیق تجربی از تیر تا پایان شهریور ماه ۱۳۸۴ در بخش پرورندها و کلینیک تخصصی بیمارستان الزهراء رشت بر ۱۰۰ زن باردار ۲۸-۳۷ هفتة که از حدود یک ماه قبل هیچ آنتی بیوتیکی مصرف نکرده بودند انجام شد. بدین صورت که ابتدا نمونه ها توسط پژوهشگر از قسم ابتدایی واژن با ۳ سواب استریل از جدار آن برداشته می شد. یکی از سواب ها به محیط آب گوشت تاد هویت معمولی (Todd Hewitt broth) و دیگری به محیط تاد هویت براث انتخابی (Selective Todd Hewitt broth) شامل ۱۵ میلی گرم در لیتر نالیدیکسیک اسید و ۸ میلی گرم در لیتر جنتامایسین منتقل می شد. اضافه کردن آنتی بیوتیک به محیط تاد هویت براث معمولی برای جلوگیری از رشد باکتری های گرم منفی و تشخیص بهتر استرپتوکوک گروه B بود و با سواب سوم یک لام مستقیم از ترشح واژن تهیه می شد. سپس لوله های حاوی محیط کشت به آزمایشگاه بیمارستان الزهراء منتقل شده و به مدت ۲۴ ساعت در

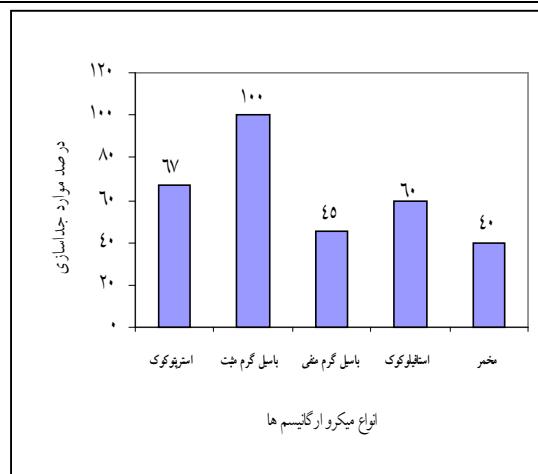
ثبت برای GBS، در لام گرم آن‌ها، این استرپتوكوک‌ها مشاهده شده بودند. استفاده از محیط تاد هویت براث انتخابی (Selective Todd Hewitt broth) شانس جدا سازی استرپتوكوک‌های گروه B را افزایش می‌دهد. به طوری که در این پژوهش نیز با انجام روش مقایسه‌ای یعنی استفاده از محیط تاد هویت براث معمولی (Todd Hewitt broth) و تاد هویت براث انتخابی میزان جداسازی از ۱۱٪ به ۱۵٪ افزایش یافت. برای افتراق استرپتوكوک گروه A از B عموماً از آزمون افتراقی باسیتراسین استفاده می‌شود، که استرپتوكوک گروه A یک منطقه عاری از رشد را در اطراف دیسک نشان می‌دهد. ولی باید توجه داشت که بعضی از سویه‌های گروه D، C و G نیز در اطراف دیسک باسیتراسین رشد نمی‌کنند. در این پژوهش نیز یک سوش از استرپتوكوک گروه B جدا شد که در برابر باسیتراسین حساس بود.

بحث و نتیجہ گیری

استرپتوکوک گروه B به عنوان یک ارگانیسم فرصت طلب قادر است عفونت های متنوع در تمام سنین ایجاد کند. این باکتری تمایل زیادی به کلونیزاسیون در خانم های حامله دارد و از این راه می تواند زایمان زودرس و همچنین عفونت های خطرناکی در نوزادان به وجود آورد. بنابراین بروز حاملان استرپتوکوک گروه B در خانم های حامله را می توان یکی از عوامل جدی خطر ساز دوران پاره ای در نظر گرفت.

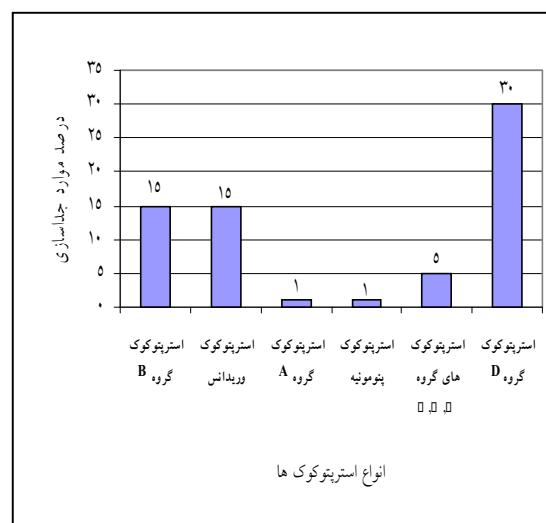
در چهار مطالعه مشابه در خارج از کشور، میزان ناقلان GBS در خانم‌های باردار در محدوده ۳۰-۱۰٪ گزارش شده است. در سال ۹۸۵ Uduman و همکاران میزان ناقلان GBC را در خانم‌های حامله ۳/۱۱٪ (۷) و در سال ۱۹۷۸ Hobel Anthony، این میزان را ۲۸٪ (۶) و در سال ۱۹۷۷ Ferrieri، Bair آن را ۱۷٪ گزارش کردند (۵). در مطالعه‌ای در امریکا در سال ۱۹۸۸ این میزان ۳۰-۱۰٪ بود (۸).

در کشور ما تاکنون دو مطالعه، انجام شده است. یکی در



نمودار شماره ۱: توزیع فراوانی میکرووارگانیسم های موجود در کشت واژن
خانم های باردار ۲۸-۳۷ هفته

آنواع استرپتوکوک جدایشده از نمونه ها در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است. استرپتوکوک های گروه D بیشترین و پس از آن GBS و گروه ویریدانس باهم بیشترین درصد را به خود اختصاص دادند (نمودار ۲).



نمودار شماره ۲: توزیع فراوانی انواع استرپتوکوک های موجود در کشت و این
خانم های باردار ۳۷-۲۸ هفتاه

اصولاً تهیه لام گرم ارزش تشخیصی بالای دارد به طوری که بسیاری از محققان آن را آزمونی مفید و سریع برای تشخیص حاملان GBS می‌دانند که قبل از آماده شدن جواب کشت، امکان درمان را در شروع زایمان میسر می‌سازد. در این پژوهش نیز به ارزش تشخیصی لام گرم پی برده شد، به طوری که تمام نمونه‌های دارای کشت

براث معمولی (Todd Hewitt broth) و تاد هویت براث انتخابی میزان جداسازی از ۱۱٪ به ۱۵٪ افزایش یافت. با توجه به نتایج، همولیز ایجاد شده در اطراف کلنی گرچه شاخص مهمی در شناسایی به شمار می‌رود، ولی برای تشخیص استرپتوکوک‌ها کافی نیست. چون که ممکن است یک کلنی با همولیز بتا متعلق به استرپتوکوک‌های گروه C، G و یا حتی D باشد. همچنین ممکن است کلنی با همولیز آلفا به استرپتوکوک‌های گروه D، ویریدانس یا پنوموکوک تعلق داشته باشد و یا یک کلنی که ایجاد همولیز نکرده مربوط به استرپتوکوک‌های گروه D یا ویریدانس باشد. بنابراین برای شناسایی ارگانیسم وسیله تشخیصی صد درصد نیست.

عموماً برای افتراق استرپتوکوک‌های گروه A از B از آزمون باسیتراسین استفاده می‌شود. در حالی که محققان ذکر می‌کنند که در حدود ۶ درصد استرپتوکوک‌های گروه B در برابر باسیتراسین حساس هستند^(۵). بدین جهت برای افتراق آنها از یکدیگر باید از سایر آزمون‌های تشخیصی استفاده شود. در این پژوهش ۱ سوش از استرپتوکوک گروه B جدا شد که به باسیتراسین حساس بود.

بر حسب تجربه، افتراق استرپتوکوک‌های گروه D از B دشوارتر از انواع دیگر آنها است. برای این منظور از آزمایش هیدرولیز بایل اسکولین آگار (Bile esculin agar) استفاده می‌شود که استرپتوکوک‌های گروه B در برابر آن جواب منفی ولی گروه D پاسخ مثبت می‌دهند. استرپتوکوک‌های گروه B در اتمسفر با فشار CO_2 بالاتر بهتر رشد می‌کنند و فاکتور کمپ را فقط در این شرایط تولید می‌کنند. با توجه به این که آلوودگی به GBS در واژن می‌تواند خطر جدی برای طول دوران حاملگی محسوب شود تمام زنان GBS مثبت در این مطالعه به سرعت آنتی‌بیوتیک‌ترابی شدندوآلوودگی آنها به GBS برطرف شد. در اکثر آزمایشگاه‌های تشخیص طبی ایران برای تهییه محیط بلا داگار (Blood agar) به جای خون گوسفند از خون انسان استفاده می‌کنند درحالیکه تقریباً همه منابع

سال ۱۳۷۱ توسط فریبا خونساری در تبریز که میزان ناقلان را ۱۴٪ و دیگری توسط دکتر شهلا فارسی در تهران که آن را ۱۷٪ گزارش کرد^(۶).

در مطالعه ما میزان ناقلان استرپتوکوک گروه B در خانم‌های حامله در شهر رشت ۱۵٪ بود. لام گرم از ارزش تشخیصی بالائی چه در مورد GBS و چه در مورد ارگانیسم‌های دیگر موجود در نمونه برخودار بود. با بررسی لام گرم، می‌توان به وجود باسیل‌های گرم منفی، مخمر، و... پس‌برد و از همه مهم‌تر آن که تا حدود زیادی وجود آلوودگی با انواع استرپتوکوک‌ها را از روی اندازه و شکل کوکسی‌ها و چگونگی آرایش زنجیرهای آن‌ها تشخیص داد و انواع استرپتوکوک‌های موجود خصوصاً GBS را شناسائی کرد. به طوری که بسیاری از محققان آن GBS را آزمونی مفید و سریع در تشخیص حاملان GBS می‌دانند که امکان آغاز درمان را در شروع زایمان قبل از آماده شدن جواب کشت، فراهم می‌سازد. این پژوهش نیز به ارزش تشخیصی لام گرم پس‌برده شد. به طوری که تمام نمونه‌ها که از نظر کشت برای GBS مثبت بودند در لام گرم نیز این استرپتوکوک‌ها را نشان داده بودند^{(۵) و (۶)}.

استفاده از محیط تاد هویت براث انتخابی استرپتوکوک گروه B را افزایش می‌دهد در استفاده از محیط تاد هویت براث معمولی، برای رشد بیشتر نمونه را ۲۴ ساعت در گرمخانه نگهداری کردیم، ولی رشد بسیار زیاد باکتری‌های گرم منفی Rshed GBS را پوشاند و بدین ترتیب تعدادی از نمونه‌های مثبت از دست رفت یا اگر ارگانیسمی رشد کرده بود، تعداد کلنی‌های آن کم بود. بنابراین طبق توصیه محققان، نتیجه گرفته شد که بهترین روش، استفاده از محیط تاد هویت براث انتخابی است چون با استفاده از آنتی‌بیوتیک در این محیط و نگهداری آن در گرمخانه، بدون مزاحمت باکتری‌های گرم منفی، جداسازی تعداد اندک GBS و نیز تعیین میزان آلوودگی امکان‌پذیر می‌شود. به طوری که در این پژوهش نیز با انجام روش مقایسه‌ای یعنی استفاده از محیط تاد هویت

نبود. این نتیجه می‌تواند هشداری برای پزشکان، متخصصان زنان و زایمان و کودکان و نوزادان و از همه مهم‌تر مسئولان میکروب‌شناسی در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی باشد که همیشه به استرپتوكوک‌های گروه B به چشم ارگانیسمی بنگردند که قادر است عفونت‌های مهم و چه بسا مرگباری را در تمام سنین، از نوزادی تا بلوغ ایجاد کند. مسئولان آزمایشگاه میکروب‌شناسی نیز باید توجه داشته باشند که این ارگانیسم ممکن است با ارگانیسم‌های دیگری مانند استرپتوكوک‌های گروه D و غیره اشتباه شود؛ بنابراین برای تشخیص آن از تمام آزمایش‌های شرح داده شده، استفاده کنند.

تشکر و قدردانی: از آقای دکتر پیمان صیفی دامپزشک کشتارگاه انزلی و خانم سیده گوهر مصباحی کارشناس آزمایشگاه میکروب‌شناسی بیمارستان الزهراء رشت و تمام کارکنان بیمارستان الزهراء رشت به خاطر همکاری صمیمانه در اجرای این تحقیق سپاسگزاریم.

برای تعیین صحیح نوع همولیز، استفاده از خون گوسفند را توصیه می‌کنند بخاطر احتمال وجود پادتن‌های ضد استرپتوكوک. از خون انسان نباید استفاده کرد. ضمن آن که انواع زیادی از ارگانیسم‌ها بر روی آن همولیز کاذب ایجاد می‌کنند. یکی از محدودیت‌های این تحقیق تهیه خون گوسفند آن هم به روش کاملاً استریل در کشتارگاه بود. چون در واژن انواع مختلف باکتری‌های فلور طبیعی وجود دارند، ایزوله کردن اختصاصی استرپتوكوک گروه B مشکل دیگری در این تحقیق بود.

برحسب نتایج این پژوهش، یعنی وجود ۱۵٪ ناقل در زنان باردار ۳۷-۳۸ هفته احتمال می‌رود که تعدادی از زایمان‌های زودرس و همچنین تعدادی از عفونت‌های نوزادان نارس با این ارگانیسم ایجاد شوند همانطور که اشاره شد، تمام زنان دچار آلوودگی GBS در این مطالعه به سرعت توسط متخصصان زنان مربوطه با آنتی‌بیوتیک درمان شدند؛ بنابراین بررسی خطرهای احتمالی ایجاد شده امکان‌پذیر

منابع

4. Baker CJ. Transmission of Group B Streptococci Among parturient Women and their Neonates.J Pediatr 1973; 83(6): 919-925.
5. Ferrieri p, Blair LL. Pharyngeal Carriage of Group B Streptococci: Detection by three Methods. J Clin Microbiol 1977; 6 (2):136-139.
6. Ross PW. GroupB Streptococcus – Profile of an Organism. J Med Microbiol 1984; 18(2):139-165.
7. Uduman SA,et al. GroupB Streptococci Colonization Among Saudi Women in Labor and Neonatal Acquisition. Int J Gynaecol Obstet 1985; 23:21-24.
8. Keenan C. Prevention of GroupB Streptococcal In Fection J American Family Physician 1998; 11(57): 1-12.

۱- فارسی، شهلا: بررسی میزان وفور حاملین استرپتوكوک گروه B در خانم‌های حامله قبل از زایمان .پایان نامه، ۱۳۷۲-۱۳۷۱، ص: ۱۴۵

۲- کانینگهم، مک دانلد؛ [و دیگران]: بارداری و زایمان ویلیامز. مترجمین علی زاهدی، غلامرضا باهوش، فرشید علی باری، محسن اسفند بد، تهران؛ نشر سماط، ۱۳۷۶، صص: ۳۹۱-۳۹۳

۳- خونساری، فریبا: بررسی بروز استرپتوكوک‌های بنا همولیتیک گروه B در خانم‌های باردار و نوزادانشان و بررسی رابطه آن با منزئت و سپتی سمی در نوزادان بخش میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز. مقاله، ۱۳۷۰-۱۳۷۱، ص: ۱

Survey Prevalence of Group B Streptococci in Genital Tract Women in 28-37 Weeks Pregnancy

Amirmozafari N. (Ph.D), Mansour Ghanaei M.(MD), Sadr Nouri B.(DmT), Farhadi Tooli L.(Msc)

Abstract

Introduction: Group B streptococci (GBS) have a tendency to colonize female genital tract and is a causing factor of premature delivery. In addition, they can also induce serious life – threatening infections such as meningitis and septicemia in the newborn. GBS infection are generally higher in pre-mature infants in relation to full-term born neonates.

Objective: The purpose of this research was to determine the prevalence of Group B streptococci in genital tract 28-37 weeks of pregnant women.

Materials and Methods: In this study specimens were obtained from 100 pregnant women (28 – 37 pregnancy weeks) who had not taken any antibiotics within one-month period prior to sample collection and referred to prenatal ward and special clinic of Alzahra Hospital during summer 2005 in Rasht.

Three vaginal swabs were taken from each woman. The first swab was used for direct lamb from vaginal secretions. The second swab was inoculated in 3ml of Todd – Hewitt broth (without antibiotic) and the third swab was inoculated into 3ml of selective Todd – Hewitt broth, supplemented gentamicin and Nalidixic acid. After 24h of incubation at 37°C in 5% CO₂ results of cultures were compared. For identification of isolated strains, the following tests were done, Hemolytic reaction, susceptibility to bacitracin, optochin and SXT discs, CAMP test, bile esculin, Hydrolysis of hippurate.

Results: Based on various biochemical and microbiological tests, 15 GBS strains were isolated from the vaginal secretions of 100 pregnant women (28 – 37 pregnancy weeks). Fifteen strains of *Streptococcus Viridans*, One case of group A streptococcus *Pneumoniae*, 5 isolated belonging to the group C,G,F Streptococci, and 30 group D streptococci strains were isolated. Beside streptococci, other microorganisms were also isolated based on Gram staining and growth characteristics on blood agar , and eosin methylene blue agar plates. One hundred Gram positive bacilli, 45 Gram negative bacilli, 60 staphylococci spp., and 40 yeast isolates were also detected.

Conclusion: In attention to %15 of 28-37 weeks pregnancy women who were carriers, it is possible that it can cause premature delivery and also infections neonates.

Key words: Infection/ Infant Mortality/ Pregnancy/Streptococcus/ Group B/ /Urinary Tract