

High Prevalence of Capsular Type I and Resistance to Multiple Antibiotics Among Streptococcus agalactiae Isolated from Pregnant Women

Mona Zakerifar¹,
Hamid Reza Goli^{2,3},
Hami Kaboosi⁴,
Zahra Rahmani⁵,
Fatemeh Peyravii Ghadikolaii⁶

¹ PhD in Microbiology, Department of Microbiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

² Molecular and Cell Biology Research Centre, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Associate Professor, Department of Microbiology and Virology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Associate Professor, Department of Microbiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

⁵ Assistant Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁶ Assistant Professor, Department of Biology, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran

(Received July 1, 2023 ; Accepted August 27, 2023)

Abstract

Background and purpose: Emergence of multidrug resistance (MDR) among *Streptococcus agalactiae* isolated from pregnant women and the presence of polysaccharide capsules in these strains play a significant role in pathogenicity. Therefore, the aim of this study was to investigate the prevalence of antibiotic resistance, multidrug resistance, and Ia and Ib capsular types in these strains.

Materials and methods: Vaginal samples were transferred to Todd-Hewitt Broth medium. After 24 hours, they were inoculated on the blood agar medium, and then the bacteria were identified using standard methods. The antibiotic resistance pattern of the isolates was determined by the disk agar diffusion method. Then, the bacterial DNA was extracted and the capsular genes were identified using PCR method.

Results: The prevalence of colonization in pregnant women was 23.25%. Tetracycline with 94.33% resistance rate was the least effective drug, while 78.3%, 81.13% and 83.01% of the isolates were non-susceptible to ofloxacin, erythromycin and quinupristin-dalfopristin, respectively. Also, 78.3% of the isolates were sensitive to penicillin. Meanwhile, 94 (88.7%) isolates were MDR, while 20 (18.86%) isolates and 32 (30.18%) isolates had the Ia and Ib capsular types, respectively.

Conclusion: Penicillin is a suitable drug for prophylaxis in high-risk pregnant women in this region. The high prevalence of MDR strains indicates the lack of proper management of antibiotics. In addition, the high prevalence of capsular types Ib and Ia, especially in MDR strains, shows the importance of these serotypes for designing capsular vaccines.

Keywords: *Streptococcus agalactiae*, multidrug resistance, capsular type, pregnant women

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (226): 74-87 (Persian).

Corresponding Author: Hamid Reza Goli and Hami Kaboosi- Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: goli59@gmail.com and hami.kaboosi@iau.ac.ir)

شیوع بالای تایپ A کپسولی و مقاومت به چندین آنتی‌بیوتیک در بین استرپتوکوکوس آگالاکتیه جدا شده از خانم‌های باردار

مونا ذاکری فر¹
حمیدرضا گلی^{2و3}
حامی کابوسی⁴
زهرا رحمانی⁵
فاطمه پیروی قادی کلائی⁶

چکیده

سابقه و هدف: ظهور مقاومت به چند دارو (MDR) در استرپتوکوکوس آگالاکتیه جدا شده از خانم‌های باردار و حضور کپسول پلی‌ساکاریدی در آن‌ها نقش بسیار مهمی در بیماری‌زایی دارند. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی، مقاومت به چند دارو و تایپ‌های Ia و Ib کپسولی در این سویه‌ها بود.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های واژینال به محیط کشت انتقالی Todd-Hewitt Broth منتقل شدند. پس از 24 ساعت، بر روی محیط کشت بلاد آگار تلقیح شده، باکتری‌ها با روش‌های استاندارد تعیین هویت شدند. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها به روش دیسک آگار دیفیوژن مشخص شد. سپس، DNA باکتری‌ها استخراج شد و ژن‌های کپسولی با استفاده از روش PCR مورد شناسایی قرار گرفتند.

یافته‌ها: شیوع کلونیزاسیون در خانم‌های باردار 25/23 درصد بود. تتراسایکلین با 94/33 درصد مقاومت کم‌اثرترین دارو بود، در حالی که 78/3، 81/13 و 83/01 درصد از ایزوله‌ها، به ترتیب نسبت به اوفلوکساسین، اریتروما سین و کینوپریستین - دالفوپریستین غیر حساس بودند. هم‌چنین، 78/3 درصد از ایزوله‌ها نسبت به پنی‌سیلین حساس بودند. در ضمن، 94 (88/7 درصد) ایزوله MDR بودند، در حالی که، به ترتیب 20 (18/86 درصد) ایزوله و 32 (30/18 درصد) ایزوله تایپ‌های کپسولی Ia و Ib داشتند.

استنتاج: پنی‌سیلین داروی مناسبی برای پروفیلاکسی در زنان باردار با ریسک بالا در این منطقه می‌باشد. شیوع بالای سویه‌های MDR نشان‌دهنده عدم مدیریت صحیح مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. در ضمن، شیوع بالای تایپ‌های کپسولی Ia و Ib، به خصوص در سویه‌های MDR، نشان‌دهنده اهمیت این سروتیپ‌ها جهت طراحی واکسن می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: استرپتوکوکوس آگالاکتیه، مقاومت به چند دارو، تایپ کپسولی، خانم‌های باردار

مقدمه

استرپتوکوکوس گروه B (استرپتوکوکوس آگالاکتیه) تناسلی و گاسترواینتستینال زنان بوده و در ایجاد یک کوکسی گرم مثبت فلور طبیعی دستگاه ادراری - عفونت‌های تهاجمی در نوزادان، زنان باردار و بزرگسالان

مؤلف مسئول: حمیدرضا گلی و حامی کابوسی - ساری: 17 کیلومتری جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی
E-mail: goli59@gmail.com and hami.kaboosi@iau.ac.ir

1. دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

2. مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

3. دانشیار، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

4. دانشیار، گروه میکروبیولوژی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

5. استادیار، گروه زنان و مامایی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

6. استادیار، گروه زیست شناسی، واحد قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم شهر، ایران

© تاریخ دریافت: 1402/4/10 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1402/5/1 تاریخ تصویب: 1402/6/5

و لینکوزامیدها (کلیندامایسین) آنتی‌بیوتیک‌های خط دوم درمانی هستند که معمولاً برای افرادی که به بتالاکتام‌ها حساسیت دارند تجویز می‌شوند (1). پنی‌سیلین G داروی انتخابی است و به‌طور گسترده در درمان بیماری بزرگسالان و پیشگیری از عفونت حین زایمان در نوزادان استفاده می‌شود (8). بنابراین، عدم حساسیت به پنی‌سیلین یک نگرانی مهم است و ممکن است به گزینه‌های جایگزین در دستورالعمل‌های درمانی نیاز داشته باشد. در ضمن، افزایش مقاومت به چند آنتی‌بیوتیک یکی از مهم‌ترین چالش‌های موجود در بحث درمان عفونت‌های میکروبی در تمام دنیا می‌باشد. ایزوله مقاوم به چند دارو (MDR) Multidrug Resistant به سویه ای اطلاق می‌شود که حداقل به سه داروی ضد میکروبی از سه کلاس مختلف به‌طور همزمان مقاوم باشد (1). مقاومت ضد میکروبی در حال ظهور در محیط‌های بالینی، جوامع و دامپزشکی به تهدیدی برای سلامت عمومی در سراسر جهان تبدیل شده است (9).

غربالگری برای شناسایی این باکتری در زنان باردار ضروری است، زیرا خطر جدی ابتلای نوزاد به عفونت در هنگام تولد وجود دارد. استرپتوکوکوس آگالاکتیه در هر سال 114000 تا 204000 مورد عفونت تهاجمی و 147000 مورد مرگ نوزادان را در سراسر جهان رقم می‌زند (4). نرخ مرگ و میر نوزادان در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه، به ترتیب 10 تا 15 درصد و 40 تا 58 درصد می‌باشد که نشان‌دهنده یک وضعیت اضطراری در سراسر جهان است (10، 11). از طرفی دیگر، با توجه به اهمیت بسیار بالایی که مقاومت به چند دارو در مراکز بهداشتی و درمانی دارد، و نظر به این که شناسایی تایپ کپسولی این باکتری برای تصمیم‌گیری در مورد طراحی واکسن ارزش بالایی دارد، بنابراین هدف از انجام این مطالعه، بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و شیوع ایزوله‌های MDR و تایپ I کپسولی در سویه‌های استرپتوکوکوس آگالاکتیه جدا شده از خانم‌های باردار بود.

غیر باردار مبتلا به بیماری‌های زمینه‌ای نقش به‌سزایی دارد (1). تخمین زده شده است که حدود 20-30 درصد از زنان باردار در جهان به ویژه در جنوب شرق آسیا این باکتری را در واژن یا رکتوم خود حمل می‌کنند (2). در اثر انتقال این باکتری از خانم‌های باردار به نوزادان آن‌ها بروز عفونت‌های زودهنگام در نوزادان اتفاق می‌افتد (2). این ارگانسیم می‌تواند در حیواناتی هم‌چون ماهی‌ها، خزندگان، دوزیستان و پستانداران هم بیماری‌های متعددی مانند ورم پستان گاوی را ایجاد کند (3). ده سروتیپ مختلف کپسولی شامل Ia، Ib، II، III، IV، V، VI، VII، VIII و IX در استرپتوکوکوس آگالاکتیه شناسایی شده‌اند که به‌عنوان یک فاکتور بیماری‌زایی مهم در فرار از پاسخ ایمنی میزبان می‌باشند (4). اگرچه میزان کلونیزاسیون استرپتوکوکوس آگالاکتیه در سراسر جهان مشابه است، اما شیوع سروتیپ‌های کپسولی آن از نظر جغرافیایی متغیر است و به‌طور کلی سروتیپ‌های Ia، Ib، II، III و V رایج‌ترین سروتیپ‌های کپسولی این باکتری در سراسر جهان می‌باشند (5). اهمیت شناسایی سروتیپ‌های این باکتری در توانایی‌های مختلف آن‌ها برای ایجاد بیماری نهفته است. با توجه به این پتانسیل، بیماری تهاجمی نوزادان و مننژیت غالباً ناشی از سروتیپ بدخیم III است، در حالی که به‌طور کلی سروتیپ‌های Ia، Ib، II، III و V به‌عنوان شایع‌ترین سویه‌های جدا شده مرتبط با بیماری‌های ناشی از این ارگانسیم شناخته می‌شوند (6). مطالعات اپیدمیولوژیک با هدف شناسایی سروتیپ‌های غالب در یک کشور خاص، می‌تواند اولین گام برای توسعه راه‌بردهای پیشگیری مانند واکسن باشد که چندین سال است به شدت روی آن کار می‌شود (4). پیشگیری از بیماری پری‌ناتال ناشی از استرپتوکوکوس آگالاکتیه در حال حاضر به غربالگری کلونیزاسیون ناشی از این باکتری در مادر و پروفیلاکسی آنتی‌بیوتیکی قبل از زایمان متکی است (7). پنی‌سیلین‌ها به‌عنوان خط درمانی اول در برابر عفونت‌های ناشی از این باکتری توصیه می‌شوند، در حالی که ماکرولیدها (اریترومایسین)

مواد و روش‌ها

نوع مطالعه، جامعه آماری و جمع‌آوری نمونه

این یک مطالعه توصیفی-تحلیلی بود که بر اساس فرمول آماری ذیل و با توجه به ضریب اطمینان 95 درصد و میزان خطای 0/05 درصد، و شیوع متوسط 25 درصدی (12-14)، جامعه آماری مورد مطالعه شامل 420 نمونه بالینی تخمین زده شد، در حالی که طبق درصد شیوع تخمین زده شد تعداد 106 ایزوله استرپتوکوکوس آگالاکتیه از این نمونه‌ها جدا شوند.

$$n = \frac{(z_{1-\frac{\alpha}{2}})^2 [P(1-P)]}{d^2}$$

این مطالعه به مدت 7 ماه از اسفند 1399 لغایت شهریور 1400 به طول انجامید و در این مدت نمونه‌های واژینال از خانم‌های باردار مراجعه کننده به مراکز بیمارستانی و کلینیک‌های زنان و زایمان (سرپایی یا بستری) جمع‌آوری شدند. به عنوان معیار ورود به مطالعه، نمونه‌های واژینال از خانم‌های بارداری که در هفته‌های 35 تا 37 بارداری بودند و در یک هفته اخیر آنتی‌بیوتیکی مصرف نکرده بودند تهیه شدند (2). اطلاعات دموگرافیک کلیه شرکت کنندگان در این مطالعه، در فرم پرسشنامه ثبت و نگهداری شدند. هم‌چنین، پیش از نمونه‌گیری، توضیحات لازم در خصوص شرکت داوطلبانه در این مطالعه و حفظ و نگهداری محرمانه اطلاعات به تمام بیماران ارائه شد. بیماران با رضایت کامل و پر کردن فرم رضایت‌نامه در این مطالعه شرکت کرده و اجازه داشته‌اند که هر زمان که مایل به ادامه نبودند، از مطالعه خارج شوند. تمام اطلاعات افراد مورد مطالعه به صورت محرمانه حفظ شد و برای انجام نمونه‌گیری، استانداردهای هلسینکی رعایت شدند. هم‌چنین، این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل با کد اخلاق (IR.IAU.BABOL.REC.1400.058) مورد تأیید قرار گرفت و متغیرهایی هم‌چون سن، شغل، میزان تحصیلات، تعداد بارداری قبلی، سابقه سقط جنین و

سابقه پارگی زودتر از موعد کیسه جنینی نیز مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه‌گیری با استفاده از سوآب استریل انجام شد، به طوری که سوآب 2 سانتی‌متر وارد ناحیه واژینال شده، سپس در محیط Todd-Hewitt Broth (LIM Broth) (سیگما، آلمان) حاوی 8 میکروگرم در لیتر جنتامایسین و 15 میکروگرم در میلی‌لیتر نالیدیکسیک اسید و 5 درصد خون دفیبرینه گوسفند به عنوان یک محیط کشت انتقالی قرار داده شد (15). نمونه‌ها جهت کشت باکتریولوژیک به آزمایشگاه دانشکده پزشکی منتقل شدند. نمونه‌های اخذ شده ظرف 24 ساعت پس از نمونه‌گیری کشت داده شدند. در مواردی که کشت سریع نمونه‌ها امکان‌پذیر نبود، در دمای 4 درجه سانتی‌گراد حداکثر به مدت 24 ساعت نگهداری شدند (15).

کشت میکروبی و تعیین هویت ارگانیزم‌ها

حساسیت تشخیص سویه‌های استرپتوکوکوس گروه B تا حد زیادی به غنی‌سازی اولیه بستگی دارد. لذا سوآب‌هایی که در محیط LIM Broth قرار داشتند به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد در انکوباتور حاوی 5 درصد CO₂ انکوبه شدند تا غنی‌سازی صورت بگیرد (15). سپس، نمونه‌های مورد نظر بر روی محیط‌های بلاد آگار (Condalab، اسپانیا) حاوی 5 درصد خون دفیبرینه گوسفندی (بهار افشان، ایران) به صورت کشت خطی چهار منطقه‌ای کشت داده شدند. سپس، به مدت 24-18 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد در حضور 5 درصد CO₂ انکوبه شدند (15). سپس، کلنی‌هایی که دارای خصوصیات مورفولوژیک استرپتوکوکوس گروه B از جمله رنگ خاکستری تا سفید و همولیز بتا بودند به عنوان کلنی‌های مشکوک انتخاب شدند. برای تعیین هویت کلنی‌های مشکوک استرپتوکوکوس آگالاکتیه، از روش‌های استاندارد هم‌چون رنگ‌آمیزی گرم و مشاهده مورفولوژی کوکسی‌های تکی، دو تایی، چند تایی یا زنجیره‌ای گرم مثبت، مقاومت به باسیتراسین 0/04

واحدی، تست کاتالاز منفی، همولیز بتا روی بلاد آگار، تست هیدرولیز L-Pyrrolidonyl Arylamidase (PYR) منفی، غیر متحرک بودن، عدم رشد بر روی محیط بایل اسکولین آگار، هیدرولیز هیپورات و تست CAMP (Christie-Atkins-Munch-Peterson) مثبت استفاده شد (16). پس از تعیین هویت نهایی ایزوله‌ها، آن‌ها در محیط کشت تریپتیکس سوی براث (Condalab) حاوی 10 درصد گلیسرول کشت داده شدند و در فریزر منهای 20 درجه سانتی گراد ذخیره‌سازی شدند.

تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها

برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها از روش دیسک آگار دیفیوژن استفاده شد و بر اساس دستورالعمل‌های انستیتو استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI) انجام شد (17). برای این منظور، ابتدا کدورتی معادل استاندارد نیم مک فارلند از باکتری‌ها در سرم فیزیولوژی استریل تهیه شد. سپس، با سوآب استریل و به صورت چمنی در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار (Condalab) حاوی 5 درصد خون گوسفندی کشت داده شدند. سپس، دیسک‌های آنتی‌بیوتیک مد نظر با فاصله 15 میلی متر از لبه پلیت و 25 میلی متر از مرکز یک دیسک تا دیسک دیگر بر روی سطح محیط کشت قرار داده شدند. پلیت‌ها به مدت 18 تا 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی گراد همراه با 5 درصد گاز CO₂ انکوبه شدند. پس از 24 ساعت، با کمک کولیس، قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی متر اندازه گیری شد و با استفاده از دستورالعمل‌های CLSI، ایزوله‌ها به صورت حساس و غیر حساس (مقاوم و نیمه مقاوم) گزارش شدند. بر اساس نتیجه آنتی‌بیو گرام، ایزوله‌های مقاوم به

چند دارو (MDR) که حداقل به سه داروی مختلف از سه خانواده متفاوت مقاوم هستند شناسایی شدند. دیسک‌های آنتی بیوتیک مورد استفاده در این مطالعه شامل پنی‌سیلین (10 واحدی)، اریترومايسين (15 میکرو گرمی)، کلیندامایسین (2 میکرو گرمی)، کانامایسین (1000 میکرو گرمی)، اوفلوکساسین (5 میکرو گرمی)، تتراسایکلین (30 میکرو گرمی)، کلرآمفنیکل (30 میکرو گرمی)، سفتریاکسون (30 میکرو گرمی) و کینوپریستین-دالفوپریستین (15 میکرو گرمی) بودند. استرپتوکوکوس آگالاکتیه ATCC12386 به‌عنوان سویه کنترل در تست آنتی‌بیو گرام استفاده شد.

استخراج DNA و شناسایی مولکولی ژن کپسولی

در این مطالعه، برای انجام تست‌های مولکولی ابتدا DNA ژنومی سویه‌های استرپتوکوکوس آگالاکتیه با استفاده از کیت DNA SinaPure و بر اساس دستورالعمل‌های شرکت سازنده استخراج شد. برای تأیید کیفیت DNA استخراج شده، از دو روش کمی و کیفی (نانودراپ و الکتروفورز روی ژل آگارز) استفاده شد. به این منظور، جذب نمونه در طول موج 280 nm و 260 nm توسط دستگاه نانودراپ (ND-1000, USA) اندازه گیری شد و نسبت جذب در طول موج 260 به 280 محاسبه شد. هم‌چنین، DNA استخراج شده روی ژل آگارز 1 درصد (سیگما، آلمان) الکتروفورز شد و باند DNA توسط دستگاه Gel Documentation (UVITEC, UK) مشاهده شد. ژن‌های کپسولی تایپ Ia و Ib با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول شماره 1) و با روش PCR تکثیر شدند. تست PCR توسط دستگاه ترموسایکلر (BioRad, USA)

جدول شماره 1: پرایمرهای مورد استفاده و شرایط انجام تست PCR در این مطالعه

ژن	توالی پرایمر (5' to 3')	طول قطعه محصول (bp)	واشرشنگی اولیه	واشرشنگی	اتصال پرایمر	گسترش	تعداد سیکل	گسترش نهایی	منبع
<i>cpsIa</i>	F: GGTCAGACTGGATTAATGGTAATGC R: GTAGAAATAGCTATATACGTTGAAATGC	521	95 درجه در 5 دقیقه	95 درجه در 30 ثانیه	45 درجه در 30 ثانیه	72 درجه در 35 ثانیه	34	72 درجه در 10 دقیقه	(18)
<i>cpsIb</i>	F: TAAACGAGAATGGAATATACCAAACC R: GAATAAACTTCAATCCCTAAACAATATCG	770	95 درجه در 5 دقیقه	95 درجه در 30 ثانیه	44 درجه در 30 ثانیه	72 درجه در 35 ثانیه	34	72 درجه در 10 دقیقه	(18)

جدول شماره 2: اطلاعات دموگرافیک خانم های باردار کلونیزه شده با استرپتوکوکوس آگالاکتیه در این مطالعه

متغیرها	گروه ها	تعداد (درصد)
گروه های سنی	20-25	17 (16/03)
	26-30	37 (34/90)
	31-35	32 (30/18)
	36-40	18 (16/98)
	41-45	2 (1/88)
شغل	خانه دار	88 (83/01)
	کارمند	6 (5/66)
	مدرس	8 (7/54)
	پزشک	2 (1/88)
	تکنسین داروخانه	2 (1/88)
محل نمونه گیری	مرکز 1	52 (49/05)
	مرکز 2	43 (40/56)
	مرکز 3	4 (3/77)
	مرکز 4	5 (4/71)
	مرکز 5	2 (1/88)
تحصیلات	زیر دیپلم و سیکل	47 (44/33)
	بالای لیسانس تا دکتری	59 (55/66)
وضعیت عیال	بستری	56 (52/83)
	سرپایی	50 (47/16)
چندمین بارداری	1	61 (57/54)
	2	18 (16/98)
	3	19 (17/92)
	4	6 (5/66)
	5	2 (1/88)
هفته چندم بارداری	35	12 (11/32)
	36	26 (24/52)
	37	68 (64/15)
سابقه سقط جنین	خیر	75 (70/75)
	بله	31 (29/24)
چند مرتبه سقط جنین داشته است	0	75 (70/75)
	1	19 (17/92)
	2	10 (9/43)
	4	2 (1/88)
پارگی کیسه آب	خیر	88 (83/01)
	بله	18 (16/98)
چند مرتبه پارگی کیسه آب داشته اند	0	88 (83/01)
	1	18 (16/98)

الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله ها و شیوع سویه های MDR

از میان آنتی بیوتیک های مورد بررسی، تتراسایکلین با 94/33 درصد مقاومت کم اثرترین دارو در این مطالعه بود، در حالی که 78/3، 81/13 و 83/01 درصد ایزوله ها، به ترتیب نسبت به اوفلوکساسین، اریترومایسین و کینوپریستین - دالفوپریستین غیر حساس بودند. این در حالی است که، 78/3 درصد ایزوله ها نسبت به پنی سیلین حساس بودند و این دارو مؤثرترین آنتی بیوتیک بر علیه

انجام شد و مقادیر مواد مورد استفاده در واکنش PCR و شرایط انجام تست در جدول 1 ذکر شده اند. حجم نهایی واکنش PCR برای هر دو ژن 15 میکرولیتر بود، در حالی که 7/5 میکرولیتر Master mix (آمپلیکون، دانمارک)، یک میکرولیتر از هر پرایمر (متابیون، آلمان)، 2 میکرولیتر از DNA استخراج شده و 3/5 میکرولیتر آب مقطر استریل در هر واکنش مورد استفاده قرار گرفت. در نهایت، محصولات PCR در ژل آگارز 1 درصد (سیگما) حاوی رنگ ایمن (safe Stain) (سیناکلون، ایران) الکتروفورز شدند و توسط دستگاه Gel Documentation مشاهده شدند.

روش آماری و تجزیه تحلیل داده ها

تمام اطلاعات این مطالعه وارد نرم افزار SPSS v22 شدند و با استفاده از جداول فراوانی و آزمون Chi-2 آنالیز شدند. در این مطالعه، $P < 0/05$ از لحاظ آماری معنی دار تلقی شد.

یافته ها

متغیرهای مورد بررسی

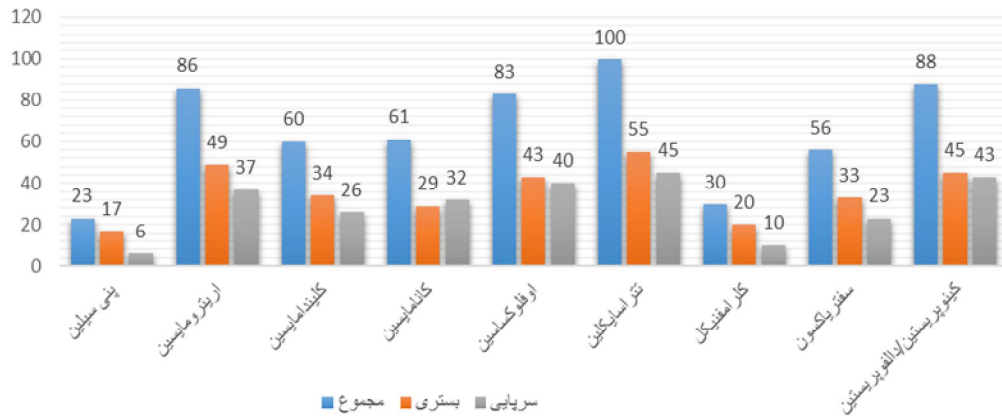
برای بدست آوردن 106 ایزوله استرپتوکوکوس آگالاکتیه در این مطالعه، تعداد 420 نمونه واژینال تهیه شد که نشان دهنده شیوع 25/23 درصدی کلونیزاسیون خانم های باردار در این منطقه می باشد. سن افراد مورد مطالعه از 20 تا 41 سال بود و میانگین سن افراد $30/74 \pm 5/25$ بود. بیشترین شیوع کلونیزاسیون (34/9 درصد) در سنین 26-30 سال مشاهده شد، در حالی که به لحاظ شغلی، 83/01 درصد از زنان کلونیزه شده با این باکتری خانه دار بودند. 57/54 درصد از شرکت کننده ها اولین بارداری خود را تجربه می کردند، 29/24 درصد از افراد کلونیزه سابقه سقط جنین قبلی داشته و 16/98 درصد از افراد حامل استرپتوکوکوس آگالاکتیه دارای سابقه پارگی زودتر از موعد کیسه جنینی بودند. اطلاعات دموگرافیک مورد بررسی در این مطالعه در جدول شماره 2 نشان داده شده است.

27 (87/09 درصد) ایزوله MDR بودند، تمامی 18 سویه جدا شده از خانم‌های باردار دارای سابقه پارگی زودتر از موعد کیسه جنینی دارای فنوتیپ MDR بودند. در بررسی ارتباط بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها و متغیرهای مورد بررسی این نتیجه به دست آمد که بین مقاومت نسبت به کلیندامایسین، کلرآمفنیکل و تتراسایکلین با نوع مرکز مربوط به نمونه‌برداری از شرکت‌کننده‌ها ارتباط معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$). هم‌چنین، با وجود این که بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در رده سنی 26 تا 30 سال مشاهده شد، اما ارتباط معنی‌داری بین این دو متغیر مشاهده نشد ($P = 0/8$). در بررسی ارتباط میان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین ($P = 0/012$) و کلیندامایسین ($P = 0/002$) با سابقه سقط جنین ارتباط معنی‌داری مشاهده شد. هم‌چنین، بین مقاومت به پنی‌سیلین ($P = 0/007$)، کلیندامایسین ($P = 0/01$) و کلرآمفنیکل ($P = 0/003$) و تعداد دفعات سقط جنین ارتباط معنی‌دار مشاهده شد. ارتباط میان مقاومت به دو آنتی‌بیوتیک کانامایسین و کینوپریستین - دالفوپریستین و پارگی کیسه آب نیز از لحاظ آماری معنی‌دار بود. میزان مقاومت ایزوله‌های جمع‌آوری شده از افراد بستری در مراکز درمانی در مقایسه با افراد سرپایی که برای زایمان مراجعه می‌کردند به‌طور قابل توجهی بالاتر بود، اما فقط مقاومت به پنی‌سیلین و اریترومایسین با این متغیر ارتباط معنی‌داری داشت. تعداد ایزوله‌های غیرحساس استرپتوکوکوس آگالاکتیه جدا شده از افراد بستری و سرپایی در نمودار شماره 1 نشان داده شده است.

ایزوله‌های مورد بررسی در این مطالعه بود. در ضمن 94 (88/7 درصد) ایزوله دارای فنوتیپ مقاومت به چند دارو (MDR) بودند، در حالی که ارتباط معنی‌داری بین مقاومت به همه آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه، بجز کانامایسین و کلرآمفنیکل و سویه‌های MDR مشاهده شد. تتراسایکلین و پنی‌سیلین، به ترتیب کم‌اثرترین و مؤثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها در برابر ایزوله‌های MDR در این مطالعه بودند. نتایج مربوط به الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها در جدول شماره 3 آمده است. در بین 94 ایزوله MDR، 76 (80/85 درصد) ایزوله از خانم‌های باردار جدا شده بودند ($P < 0/05$)، در حالی که 32 (34/04 درصد) و 30 (31/91 درصد) ایزوله، به ترتیب از افراد دارای محدوده سنی 26-30 سال و 31-35 سال جدا شده بودند. هم‌چنین، از 52 ایزوله‌ای که از افراد بستری در مرکز 1 جمع‌آوری شده بودند، 50 (96/15 درصد) ایزوله دارای فنوتیپ مقاوم به چند دارو بودند. این در حالی بود که به‌طور کلی ارتباط معنی‌داری بین بستری یا سرپایی بودن افراد و حضور سویه‌های MDR در این مطالعه مشاهده نشد، به‌طوری که از 94 ایزوله MDR، به ترتیب 54 (57/44 درصد) و 40 (42/55 درصد) سویه جدا شده از بیماران بستری و سرپایی دارای این فنوتیپ بودند. هم‌چنین، به ترتیب 65 (69/14 درصد)، 20 (21/27 درصد) و 8 (8/51 درصد) سویه MDR از افرادی جدا شده بودند که در هفته‌های 37، 36 و 35 بارداری بودند ($P < 0/05$). در ضمن، از 31 سویه جدا شده از خانم‌های باردار دارای سابقه سقط جنین،

جدول شماره 3: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های استرپتوکوکوس آگالاکتیه جدا شده از خانم‌های باردار در این مطالعه

سطح معنی‌داری	ایزوله‌های Non-MDR (12)		ایزوله‌های MDR (94)		کل ایزوله‌ها (106)		آنتی‌بیوتیک‌ها
	غیرحساس تعداد (درصد)	حساس تعداد (درصد)	غیرحساس تعداد (درصد)	حساس تعداد (درصد)	غیرحساس تعداد (درصد)	حساس تعداد (درصد)	
0/050	-	(100) 12	(24/46) 23	(75/53) 71	(21/69) 23	(78/3) 83	پنی‌سیلین
> 0/001	(16/66) 2	(83/33) 10	(89/36) 84	(10/63) 10	(81/13) 86	(18/86) 20	اریترومایسین
> 0/001	-	(100) 12	(63/82) 60	(36/17) 34	(5/6) 60	(43/39) 46	کلیندامایسین
0/071	(33/33) 4	(66/66) 8	(60/63) 57	(39/36) 37	(57/54) 61	(42/45) 45	کانامایسین
> 0/001	(16/66) 2	(83/33) 10	(87/23) 82	(12/76) 12	(78/3) 83	(21/69) 23	اوپلوکسازین
> 0/001	(66/66) 8	(33/33) 4	(97/87) 92	(2/12) 2	(94/33) 100	(5/66) 6	تتراسایکلین
0/062	-	(100) 12	(31/91) 30	(68/08) 64	(2/8) 30	(71/69) 76	کلرآمفنیکل
0/008	(16/66) 2	(83/33) 10	(57/44) 54	(42/55) 40	(52/83) 56	(47/16) 50	سفتراکسون
> 0/001	(33/33) 4	(66/66) 8	(89/36) 84	(10/63) 10	(83/01) 88	(16/98) 18	کینوپریستین/دالفوپریستین



نمودار شماره 1: تعداد ایزوله های غیرحساس به آنتی بیوتیک های تست شده به تفکیک افراد سرپایی و بستری

تعیین شیوع تایپ های کپسولی Ia و Ib

کپسولی Ib ارتباط معنی دار مشاهده شد ($P=0/01$)، در حالی که مقاومت به اریترومايسين نیز با حضور تایپ Ia کپسولی ارتباط معنی دار داشت ($P<0/001$). هم چنین، بیش از 90 درصد سویه های دارای تایپ Ia به اوفلوکساسین مقاوم بودند ($P=0/01$). اما از طرف دیگر، حدود 90 درصد سویه های دارای تایپ Ib نیز به کلرامفنیکل حساس بودند که بین حساسیت به کلرامفنیکل و حضور تایپ Ib ارتباط معنی دار مشاهده شد ($P=0/02$). از بین 20 ایزوله ای که دارای تایپ کپسولی Ia بودند، 17 (85 درصد) ایزوله MDR بودند، در حالی که از 32 ایزوله حامل ژن کپسولی *ib*، 30 (93/75 درصد) ایزوله دارای فنوتیپ MDR بودند ($P=0/01$).

بحث

استرپتوکوکوس آگالاکتیه اولین بار از شیر گاوهای مبتلا به ماستیت شناسایی شد و در گذشته به عنوان یک عامل کلونیزاسیون بی علامت در مجرای واژینال خانم ها توصیف می شد، اما پس از سال 1938 که سه مورد مرگ ناشی از عفونت پس از زایمان توسط این ارگانیسم گزارش شد، به عنوان یک پاتوژن عامل عفونت های مهاجم در نوزادان و بزرگسالان مطرح شد (5). در حالی که شیوع کلونیزاسیون در مطالعه حاضر 25/23 درصد

شیوع تایپ های کپسولی Ia و Ib در سویه های استرپتوکوکوس آگالاکتیه جمع آوری شده در این مطالعه به ترتیب 18/86 درصد (20 ایزوله) و 30/18 درصد (32 ایزوله) بود. در حالی که 70 درصد سویه های تایپ Ia از افراد بستری جدا شده بودند، اما 40/6 درصد از سویه های دارای تایپ Ib کپسولی از این افراد جداسازی شده بودند. هم چنین، به ترتیب 50 و 68/8 درصد از سویه های دارای تایپ کپسولی Ia و Ib از خانم های بارداری که در هفته 37 بارداری بودند جداسازی شده بودند، 45 و 18/8 درصد از سویه ها در هفته 36 بارداری از افراد جداسازی شده بودند. در ضمن، 25 و 28/1 درصد از سویه های دارای تایپ کپسولی Ia و Ib از خانم های بارداری جداسازی شده بودند که دارای سابقه سقط جنین بودند، در حالی که این شیوع در مورد سابقه پارگی زودتر از موعد کیسه جنینی، به ترتیب 10 درصد و 12/5 درصد بود. در این مطالعه، 50 درصد سویه های دارای تایپ کپسولی Ia از مرکز 1 جدا شدند و 50 درصد باقیمانده از چهار کلینیک جداسازی شد که از لحاظ آماری معنی دار بود ($P<0/001$). در بررسی ارتباط میان تایپ های کپسولی استرپتوکوکوس آگالاکتیه و مقاومت آنتی بیوتیکی، بین مقاومت به پنی سیلین و حضور تایپ

بود، فراوانی استرپتوکوکوس آگالاکتیه در زنان باردار طی 2 دهه گذشته بسیار متغیر بوده است. برای مثال، فراوانی استرپتوکوکوس گروه B در مطالعه نهایی و همکارانش در سال 2005 و در شهر تبریز (5/2 درصد)، ربیعی و همکارانش در سال 2006 و در شهر همدان 26/7 درصد، در مطالعه عالی و همکارانش در سال 2007 و در شهر کرمان 9/2 درصد، در مطالعه فاطمی و همکارانش در سال 2009 در شهر تهران 20/6 درصد، در مطالعه جاهد و همکارانش در سال 2011 و در شهر تهران 5/3 درصد، آبسالان و همکارانش در سال 2013 در یزد (19/6 درصد)، برناسی و همکارانش در سال 2016 و در شهر اراک (10/2 درصد) و در مطالعه فاخری و همکارانش در سال 2020 در شهر کرمانشاه 6 درصد به دست آمد (12، 25-19). دلیل تنوع نتایج را می توان به عواملی مانند تفاوت در سن بارداری، روش کشت میکروبی (واژینال یا رکتال)، اختلاف ذاتی در جمعیتها (تفاوت ژنتیکی در ایزوله‌ها) و استفاده بیش تر از آنتی بیوتیک‌ها در برخی افراد که باعث کاهش تعداد ارگانیسیم می شود و مهارت ناکافی پرسنل در تشخیص نسبت داد. هم چنین، در مطالعه حاضر بیش ترین موارد سویه‌های استرپتوکوکوس آگالاکتیه از افراد سنین 26-30 سال و 31-35 سال جداسازی شده بودند که با مطالعه آبسالان و همکارانش مطابقت داشت (23).

زنان باردار جزء گروه پرخطر برای استرپتوکوکوس گروه B محسوب می شوند. پیش تر برای پیشگیری از عفونت‌های زودرس ناشی از استرپتوکوکوس آگالاکتیه، پنی سیلین به صورت وریدی برای مادران تجویز می شد. برای مادرانی که به پنی سیلین حساسیت دارند، از اریترومایسین و کلیندامایسین می توان به عنوان خط دوم درمان استفاده کرد. این در حالی است که مقاومت به این آنتی بیوتیک‌ها نیز در حال افزایش است و درمان تجربی توصیه نمی شود. بنابراین، برای انتخاب درمان آنتی بیوتیکی مناسب، انجام تست حساسیت آنتی بیوتیکی ضروری است (26).

در مطالعه حاضر، تتراسایکلین کم اثرترین دارو بوده و میزان مقاومت به آن 94/33 درصد بوده است. نتایج مطالعه حاضر با مطالعه برناسی و همکارانش در ایران مطابقت داشت (24)، در حالی که یک مطالعه مشابه دیگر در آفریقا نیز تتراسایکلین را با میزان مقاومت 100 درصد به عنوان بی اثرترین آنتی بیوتیک گزارش کرده است (27). در مورد مقاومت نسبت به پنی سیلین که داروی انتخابی برای این باکتری می باشد، 21/69 درصد از ایزوله‌های مطالعه حاضر غیرحساس بودند، در حالی که در مطالعه برناسی و همکارانش هیچ مقاومتی در برابر پنی سیلین مشاهده نشد (24). این موضوع نشان دهنده این واقعیت است که مصرف بالای آنتی بیوتیک‌های خانواده پنی سیلین در ایران در طی سال 2016 تاکنون باعث افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های فلور نرمال واژینال در خانم‌ها شده است. این موضوع زمانی نمود بیش تری پیدا می کند که بتالاکتام‌ها به راحتی در داروخانه‌ها در دسترس مردم قرار دارند و مصرف خودسرانه آن‌ها بالاست. هم چنین، مطالعه‌ی دیگری که در کشور کامرون در سال 2018 انجام شده بود نیز هیچ مقاومتی در برابر آمپی سیلین، اگزاسیلین و سفوتاکسیم گزارش نکرده بود (2). از طرفی دیگر، 81/13 و 56/6 درصد ایزوله‌های مطالعه حاضر، به ترتیب در برابر اریترومایسین و کلیندامایسین که داروهای جایگزین بتالاکتام‌ها هستند مقاوم بودند.

در مطالعه علیپور و همکارانش در تبریز در سال 2020، میزان مقاومت به تتراسایکلین 98/8 درصد، اریترومایسین 29/8 درصد و کلیندامایسین 98/8 درصد گزارش شد (28). هم چنین، نتایج مطالعه حاضر با مطالعه Haimbodi و همکاران که در سال 2021 در کشور نامیبیا بر روی 210 زن باردار انجام شد و هیچ ایزوله‌ای به کلیندامایسین و اریترومایسین مقاوم نبود، همخوانی نداشت (27). علت عدم همخوانی نتایج مطالعه حاضر با مطالعه فوق احتمالاً به دلیل تفاوت منطقه جغرافیایی و تفاوت در میزان مصرف آنتی بیوتیک می باشد. بررسی

از طرفی دیگر، 18/86 و 30/18 درصد از ایزوله‌های مورد بررسی در این مطالعه، به ترتیب حامل ژن‌های کدکننده کپسولی *Ia* و *Ib* بودند، در حالی که حضور تایپ *Ia* با مقاومت به اریترومايسين و اوفلوکساسين و حضور *Ib* با مقاومت به پنی‌سیلین ارتباط معنی‌داری داشت. در مطالعه‌ای که در سال 2022 از کشور برزیل به چاپ رسیده بود، به ترتیب 33 و 8/9 درصد ایزوله‌ها در گروه کپسولی *Ia* و *Ib* قرار گرفته بودند (32). هم‌چنین، مطالعه‌ای دیگر در کشور ویتنام نشان داد که 11/59 و 2/9 درصد از ایزوله‌های استرپتوکوکوس آگالاکتیه جمع‌آوری شده از خانم‌های باردار حامل ژنهای *Ia* و *Ib* بودند (33). کپسول پلی‌ساکارید نقش مهمی در پیشگیری از فاگوسیتوز شدن استرپتوکوکوس آگالاکتیه دارد (34). کپسول پلی‌ساکاریدی این باکتری باعث ایجاد تنوع آنتی‌ژنی می‌شود، در حالی که انواع *Ia*، *Ib*، *II*، *III* و *V* تقریباً 98 درصد کلونیزاسیون ناشی از این ارگانیسم را در سطح جهان تشکیل می‌دهند و نوع *III* با عفونت‌های شدید نوزادی همراه است (32). بنابراین، تایپ کپسولی ایزوله‌ها در هر نقطه از دنیا نشان‌دهنده یک استراتژی مهم اپیدمیولوژیک برای ردیابی پاتوژن و طراحی واکسن مناسب برای این ارگانیسم است. در ضمن، تایپ *I* کپسولی در مالزی، آمریکا و بعضی از کشورهای اروپایی شیوع بالاتری از سایر تایپ‌های کپسولی دارد (33). مطالعه‌ای دیگر که یک بررسی 5 ساله را در کشور ایتالیا انجام داده بود، به ترتیب شیوع تایپ‌های کپسولی *Ia* و *Ib* را 15/7 و 1/3 درصد گزارش کرده بود (4). در آرژانتین و در سال 2021 نیز در میان سویه‌های استرپتوکوکوس آگالاکتیه جدا شده از زنان باردار در هفته‌های 35-37 بارداری، سرو تایپ‌های *Ia* و *Ib*، به ترتیب در 33/5 و 15/5 درصد ایزوله‌ها مشاهده شدند (35). دلایل شیوع متفاوت سرو تایپ‌های کپسولی این ارگانیسم در نقاط مختلف دنیا را می‌توان بررسی مکان‌های مختلف جغرافیایی، منبع جدایه‌های باکتریایی، مشخصات جمعیت مورد مطالعه و دوره زمانی در این مطالعات دانست. در

مطالعات در سال‌های گذشته نشان‌دهنده افزایش بی‌رویه در مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومايسين و کلیندامایسین می‌باشد، به طوری که در مطالعه جاهد و همکارانش در سال 2011، تمام جدایه‌ها به اریترومايسين و کلیندامایسین حساس بودند (22). آن‌چه که حائز اهمیت می‌باشد این تفاوت هاست که نشان‌دهنده مدیریت متفاوت آنتی‌بیوتیک در مناطق مختلف است. البته هنوز هم می‌توان به پنی‌سیلین بیش‌تر از سایر آنتی‌بیوتیک‌های تست شده در این مطالعه اعتماد کرد، هر چند که میزان مقاومت به کلرآمفنیکل نیز 28/3 درصد بود. با توجه به عوارض جانبی که کلرآمفنیکل می‌تواند برای انسان داشته باشد، می‌توان گفت که پنی‌سیلین هنوز هم داروی انتخابی در این منطقه است.

نکته مهم‌تری که در این مطالعه با آن روبرو شدیم درصد بسیار بالای مقاومت به چند دارو در بین ایزوله‌های مورد بررسی بود، در حالی که 88/7 درصد از ایزوله‌ها این فوتیپ را نشان دادند و این می‌تواند زنگ خطری برای این منطقه باشد. با توجه به این که پیشگیری از ایجاد عفونت در نوزادانی که از مادران کلونیزه شده با استرپتوکوکوس آگالاکتیه به دنیا می‌آیند از طریق تزریق وریدی دارو به مادر باردار چند ساعت قبل از تولد نوزاد می‌باشد (4)، بنابراین حضور سویه‌های MDR در مادران می‌تواند چالش‌های جدی را در این مورد ایجاد کند. مطالعات گذشته بر این اعتقاد بودند که تغییرات آمینواسیدی در پروتئین‌های متصل شونده به پنی‌سیلین (PBPs) می‌توانند اساس ایجاد سویه‌های MDR باشند (29، 30). این درحالی است که تمامی 23 ایزوله غیرحساس در مطالعه حاضر نیز در گروه سویه‌های MDR قرار گرفته بودند که تأییدکننده مطالعات گذشته می‌باشد. در مطالعه‌ای که در سال 2022 از کشور ایتالیایی به چاپ رسیده است 13/79 درصد ایزوله‌های استرپتوکوکوس آگالاکتیه جمع‌آوری شده از مادران باردار MDR بودند، در حالی که 86/2 درصد ایزوله‌های آنها به پنی‌سیلین مقاوم بودند (31).

اریترومایسین و کینوپریستین/دالفوپریستین داشتند که این پیغامی برای پزشکان زنان و زایمان و متخصصان عفونی است که مصرف این آنتی‌بیوتیک‌ها را در منطقه کنترل کنند. در ضمن، پنی‌سیلین و کلرامفنیکل بیش‌ترین توانایی را در مهار رشد سویه‌های استرپتوکوکوس آگالاکتیه داشتند، بنابراین، هنوز هم می‌توان از پنی‌سیلین برای پروفیلاکسی در زنان باردار در هفته‌های 35-37 بارداری که زایمان طبیعی انجام می‌دهند، یا این که سابقه سقط جنین یا پارگی زودتر از موعد کیسه جنینی دارند و کشت استرپتوکوکوس آگالاکتیه در آن‌ها مثبت بوده است، استفاده کرد. البته شیوع بالای سویه‌های MDR که نشان‌دهنده‌ی عدم مدیریت صحیح مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در این منطقه می‌باشد، هم درمان و هم پیشگیری از ایجاد عفونت را با مشکلات جدی مواجه خواهد کرد. در ضمن، شیوع بالای تایپ‌های کپسولی Ib و Ia در این مطالعه، به‌خصوص در سویه‌های MDR، نیز نشان‌دهنده اهمیت این سروتیپ‌ها جهت طراحی و ساخت واکسن برای پیشگیری و کنترل این پاتوژن در زنان باردار و نوزادان در منطقه ما می‌باشد.

منطقه ما قبلاً مطالعه‌ای انجام نشده بود که تایپ کپسولی استرپتوکوکوس آگالاکتیه جدا شده از زنان باردار را مورد بررسی قرار دهد و با این مطالعه به این نتیجه رسیدیم که در مجموع 49/04 درصد ایزوله‌ها دارای تایپ کپسولی I بودند. بنابراین، برای طراحی واکسن در این منطقه، حتماً باید این سروتیپ کپسولی را در نظر گرفت. از طرفی دیگر، به ترتیب 85 و 93/75 درصد از ایزوله‌های دارای تایپ‌های کپسولی Ia و Ib دارای فنوتیپ MDR بودند که نشان‌دهنده اهمیت بالای حضور آنتی‌ژن‌های کپسولی مذکور در ایجاد فنوتیپ MDR می‌باشد. علاوه بر این‌ها، مطالعات قبلی نشان داده است که توزیع سروتیپ‌های کپسولی استرپتوکوکوس آگالاکتیه نه تنها از یک کشور به کشور دیگر، بلکه بین استان‌های داخل همان کشور، با تغییر در شیوع در طول زمان، متفاوت است (36). بنابراین، مطالعات تکمیلی باید برای روشن شدن شیوع و سروتیپ‌های استرپتوکوکوس گروه B در همه استان‌های ایران به‌طور متناوب انجام شود. سویه‌های استرپتوکوکوس آگالاکتیه مقاومت قابل توجهی نسبت به تتراسایکلین، اوفلوکساسین،

References

- Li C, Sapugahawatte DN, Yang Y, Wong KT, Lo NWS, Ip M. Multidrug-resistant *Streptococcus agalactiae* strains found in human and fish with high penicillin and cefotaxime non-susceptibilities. *Microorganisms* 2020; 8(7): 1055.
- Nkembe NM, Kamga HG, BaiyeWA, Chafa AB, Njotang PN. *Streptococcus agalactiae* prevalence and antimicrobial susceptibility pattern in vaginal and anorectal swabs of pregnant women at a tertiary hospital in Cameroon. *BMC Res Notes* 2018; 11(1): 480.
- Sapugahawatte DN, Li C, Dharmaratne P, Zhu C, Yeoh YK, Yang J, et al. Prevalence and Characteristics of *Streptococcus agalactiae* from Freshwater Fish and Pork in Hong Kong Wet Markets. *Antibiotics* 2022; 11(3): 397.
- 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): 2387-2396.
- Raabe VN, Shane AL. Group B streptococcus (*Streptococcus agalactiae*). *Microbiol Spectr* 2019; 7(2): 10.1128.
- Burcham LR, Spencer BL, Keeler LR, Runft DL, Patras KA, Neely MN, et al. Determinants of Group B streptococcal virulence potential amongst vaginal clinical isolates from

- pregnant women. *PLoS One* 2019; 14(12): e0226699.
7. Brown AP, Denison FC. Selective or universal screening for GBS in pregnancy. *Early Human Development* 2018; 126: 18-22.
 8. Le Doare K, O'Driscoll M, Turner K, Seedat F, Russell NJ, Seale AC, et al. Intrapartum antibiotic chemoprophylaxis policies for the prevention of group B streptococcal disease worldwide: systematic review. *Clin Infect Dis* 2017; 65(suppl_2): S143-S151.
 9. Simoni S, Vincenzi C, Brenciani A, Morroni G, Bagnarelli P, Giovanetti E, et al. Molecular characterization of Italian isolates of fluoroquinolone-resistant *Streptococcus agalactiae* and relationships with chloramphenicol resistance. *Microb Drug Resist* 2018; 24(3): 225-231.
 10. Seale AC, Bianchi-Jassir F, Russell NJ, Kohli-Lynch M, Tann CJ, Hall J, et al. Estimates of the burden of group B streptococcal disease worldwide for pregnant women, stillbirths, and children. *Clin Infect Dis* 2017; 65(suppl_2): S200-S219.
 11. Oordt-Speets AM, Bolijn R, van Hoorn RC, Bhavsar A, Kyaw MH. Global etiology of bacterial meningitis: a systematic review and meta-analysis. *PloS One* 2018; 13(6): e0198772.
 12. Rabiee S, Arab M, Yousefi Mashouf R. Epidemiologic pattern of vaginal colonization by group B *Streptococcus* in pregnant women in Hamadan, Central west of Iran. *Iranian Journal of Medical Sciences* 2006; 31(2): 106-108.
 13. Javanmanesh F, Eshraghi N. Prevalence of positive recto-vaginal culture for Group B streptococcus in pregnant women at 35-37 weeks of gestation. *Med J Islamic Repub Iran* 2013; 27(1): 7-11.
 14. 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): 141-145.
 15. Filkins L, Hauser JR, Robinson-Dunn B, Tibbetts R, Boyanton BL, Revell P. American Society for Microbiology provides 2020 guidelines for detection and identification of group B *Streptococcus*. *J Clin Microbiol* 2020; 59(1): e01230-20.
 16. M Tille P. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology Fourteenth Edition*. Elsevier; 2017.
 17. Wayne P. Clinical and laboratory standards institute: performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-fourth informational supplement, M100-S30. *Clin Lab Stand Inst* 2020; 34(1).
 18. Yao K, Poulsen K, Maione D, Rinaudo CD, Baldassarri L, Telford JL, et al. Capsular gene typing of *Streptococcus agalactiae* compared to serotyping by latex agglutination. *J Clin Microbiol* 2013; 51(2): 503-507.
 19. Nahaei MR, Ghandchilar N, Bilan N, Ghahramani P. Maternal carriage and neonatal colonization of *Streptococcus agalactiae* in Tabriz, Northwest Iran. *Iranian Journal of Medical Sciences* 2007; 32(3): 177-181 (Persian).
 20. Aalei B, Abdollahi H, Nakhaei N, Davazdah EZ, Mahdizadeh A. The association of preterm labor with vaginal colonization of group B streptococci. *International Journal of Reproductive Biomedicine* 2007; 5(5): 191-194 (Persian).
 21. Fatemi F, Chamani L, Pakzad P, Zeraati H, Rabbani H, Asgari S. Colonization rate of group B *Streptococcus* (GBS) in pregnant women using GBS agar medium. *Acta Medica*

- Iranica 2009;25-30.
22. Jahed T, Shariati MK, Darabi P, Karimi A. Frequency of Group B Streptococcus colonization and antibiogram in women at 35-37 weeks of gestation visited in prenatal clinic of Mahdieh Hospital in 2008. *Pajoohandeh* 2011; 16(3): 139-143 (Persian).
 23. Absalan M, Eslami G, Zandi H, Mosaddegh A, Vakili M, Khalili MB. Prevalence of recto-vaginal colonization of group B streptococcus in pregnant women. *Journal of Isfahan Medical School* 2013; 30(220): 2367-2375 (Persian).
 24. Bornasi H, Ghaznavi-Rad E, Fard-Mousavi N, Zand S, Abtahi H. Antibiotic resistance profile and capsular serotyping of Streptococcus agalactiae isolated from pregnant women between 35 to 37 weeks of pregnancy. *Koomesh* 2016; 17(2): 352-357 (Persian).
 25. Fakheri T, Hemati M, Shah Hossaini E, Nankali A. Prevalence of Group B Streptococcus in pregnant women at 24-34 weeks of gestation, with symptoms of preterm labor with and without rupture of membrane. *The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility* 2020; 23(1): 19-24 (Persian).
 26. Leszczyński P, Sokół-Leszczynska B, Pietrzak B, Sawicka-Grzelak A, Wielgoś M. Erythromycin or Clindamycin—is it Still an Empirical Therapy against in Patients Allergic to Penicillin? *Pol J Microbiol* 2017; 66(2): 265-268.
 27. Haimbodi EL, Mukesi M, Moyo SR. Prevalence and molecular characterization of group B streptococcus in pregnant women from hospitals in Ohangwena and Oshikoto regions of Namibia. *BMC Microbiology* 2021; 21(1): 1-9.
 28. 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.
 29. Kimura K, Suzuki S, Wachino J-I, Kurokawa H, Yamane K, Shibata N, et al. First molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52(8): 2890-2897.
 30. Nagano N, Nagano Y, Toyama M, Kimura K, Tamura T, Shibayama K, et al. Nosocomial spread of multidrug-resistant group B streptococci with reduced penicillin susceptibility belonging to clonal complex 1. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67(4): 849-856.
 31. Tesfaye A, Melese A, Derbie A. Antimicrobial resistance profile and associated factors of group B Streptococci colonization among pregnant women attending antenatal clinics in Jigjiga, Southeast Ethiopia. *Int J Microbiol* 2022; 9910842.
 32. Barros RR, Alves KB, Luiz FBO, Ferreira DG. Prevalence of Streptococcus agalactiae capsular types among pregnant women in Rio de Janeiro and the impact of a capsular based vaccine. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2023; 58.
 33. 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): 11-17.
 34. Patras KA, Nizet V. Group B streptococcal maternal colonization and neonatal disease: molecular mechanisms and preventative approaches. *Frontiers in Pediatrics* 2018; 6: 27.
 35. Bobadilla FJ, Novosak MG, Cortese IJ, Delgado OD, Laczkeski ME. Prevalence, serotypes and virulence genes of Streptococcus

agalactiae isolated from pregnant women with 35–37 weeks of gestation. *BMC Infectious Diseases* 2021; 21(1): 73.

36. Africa CW, Kaambo E. Group B *Streptococcus* serotypes in pregnant women from the Western Cape Region of South Africa. *Front Public Health* 2018; 6: 356