جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۱ شماره ۲ تابستان ۱۳۸۶، صفحات ۱-۸

ارزیابی روش PCR درمقایسه با کشت به منظور تشخیص ناقلین استرپتوکوک گروه B درزنان باردار

روناک بختیاری*[۱]، محمد مهدی سلطان دلال[۲] ، جواد زعیمی یزدی[۳]، جلیل فلاح[۴] ، نور امیر مظفری[۵] ، محمدرضا پورمند[۲] ، سارا حاجی خانی[۲]

۱) واحد علوم وتحقیقات ، دانشگاه آزاد اسلامی
۲) بخش میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳) گروه پاتوبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
۴) انستیتوتحقیقات بیوانفورماتیک عصر نوین، تهران
۵) بخش میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
نویسنده رابط: روناک بختیاری ، بخش میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
تلفن: ۶۶۴۰۲۰۹۵ rounakbakhtiari@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۸۶/۶/۲۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۶/۷/۲

چکیده:

زمینه واهداف: عفونت های استرپتوکوک گروه B (GBS) از دلایل مهم مرگ و میر و بیماری در نوزادان تازه متولد شده و تب های بعد از زایمان مادران می باشد. تشخیص سریع ارگانیسم در زنان حامله، جهت شروع درمان به موقع ضروری است. در این مطالعه ما کارآیی دو روش PCR و کشت را جهت غربالگری زنان حامله ناقل GBS بررسی کردیم.

روش بررسی: در این تحقیق از ۱۲۵ خانم باردار که در هفته ۳۷-۳۵ بارداری بودند، نمونه هایی از مقعد و واژن گرفته و سپس بوسیله دو روش کشت استاندارد بر روی Todd Hewith Broth و بلادآگار و همچنین تعیین ژن *cfb* بوسیله آزمون PCR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: از ۱۲۵ نمونه مورد آزمایش، کلونیزاسیون GBS بوسیله روش کشت در ۱۰ نفر (۸٪) و بوسیله آزمون PCR، ۱۲ نفر (۹/۶٪) حامل میکروب GBS از واژن و رکتوم بودند. در مقایسه با نتایج کشت حساسیت آزمون PCR و ارزش اخباری منفی آن به ترتیب ۱۰۰٪ و ۱۰۰٪ بود. ویژگی و ارزش اخباری مثبت در آزمون PCR به ترتیب ۹۸٪ و ۸۳٪ می باشد. همچنین زمان لازم برای حصول نتیجه در آزمون PCR حدودا" ۲ ساعت درحالیکه در روش کشت ۳۶ ساعت می باشد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج مطالعه اینگونه می توان استنباط کرد که روش PCR دارای حساسیت و ویژگی بالایی بوده و کلونیزاسیون استرپتوکوک گروه B را با اطمینان و به سرعت می توان تشخیص داد.

کلید واژه ها: استرپتوکوک گروه B ، زنان باردار، کشت استاندارد، آزمون PCR

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه:

استرپتوکوک های گروه B (GBS یا استرپتوکوک آگالاکتیه) از عوامل مهم ایجاد مننژیت، سپسیس و مرگ در نوزادان تازه متولد شده در کشورهای توسعه یافته و درحال توسعه می باشد تقریبا" ۴۰-۱۰٪ از زنان باردار که باکتری GBS در بدن آنها کلونیزه شده، هم در رکتوم و هم در واژن خود حامل باکتری هستند و ۸۰-۷۰٪ این زنان GBS را به نوزادان خود منتقل می کنند. از بین نوزادان آلوده در ۳-۱٪ آنها بیماری پیشرفت کرده و تقریبا" همیشه شروع عفونت از همان ۲۴ ساعت اول تولد آغاز می شود و منجر به سپسیس و مننژیت می گردد (۱و۲).

این ارگانیسم 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 آنها مورد توجه قرار گرفت. از سال ۱۹۷۰ به بعد اهمیت GBS بیش از پیش مشخص گردید زیرا این ارگانیسم علت شایع عفونت در زنان تب دار بعد از زایمان و نوزادان محسوب می شود به طوری که در ایجاد عفونت در دوماهه اول تولد در نوزادان بر *E.coli* نیز پیشی گرفت. گزارشات اخیر نشان می دهد که وقوع عفونت های نوزادان ناشی از سایر عوامل اتیولوژی بویژه کلی فرمها طی سال های اخیر بدون تغییر مانده است ولی شیوع زیاد عفونت های GBS در نوزادان با افزایش تعداد این عفونت ها در بالغین نیز حائز اهمیت می باشد (۳).

با توجه به شدت و گسترش عفونت های GBS و اهمیت سلامت مادران و نوزادان در برابر عفونت های بعد از زایمان، CDC و کالج ژینکولوژیست های آمریکا و آکادمی پزشکان در سال ۲۰۰۲، غربالگری زنان باردار را از جهت کلونیزاسیون GBS به منظور انجام به موقع درمان و جلوگیری از انتقال به نوزادان پیشنهاد نموده است (۴). روش استاندارد برای تشخیص شامل کشت از ترشحات واژن و مقعد می باشد. با توجه به مشکلات متعددی که از نظر طولانی بودن زمان کشت و نیاز به وجود یک کارشناس ماهر جهت تشخیص باکتری می باشد، روش هایی مانند PCR که در مدت کوتاهتر و با دقت بیشتر سبب شناسایی باکتری جهت درمان به موقع و جلوگیری از درمان غیر ضروری در مواردیکه کلونیزاسیون وجود ندارد، مورد نیاز می باشد. پس با توجه به دقت و سرعت روش PCR، میزان ناقلین GBS را با استفاده از روش کشت و آزمون PCR ارزیابی کرده ایم.

مواد و روش ها:

در این تحقیق ۱۲۵ زن باردار که در هفته ۳۵ تا ۳۷ بارداری بوده و تحت نظر جهت زایمان بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه گیری همزمان جهت آزمایش کشت و PCR با استفاده از سوآپ های استریل انجام گردید. دو سوآپ اول را (یکی از واژن و یکی از مقعد) برای بررسی مستقیم نمونه ها بکار بردیم. ۲ سوآپ بعدی در داخل محیط ترانسپورت استوارت قرار داده و به آزمایشگاه منتقل می نمائیم ۲ سوآپ را هم داخل بافر PBS جهت انجام آزمون PCR قرار می دهیم (۵). جهت انجام آزمایش کشت نمونه های انتقالی از طریق محیط استورات را به Todd Hewith Broth که حاوی ۱۰ میکروگرم در میلی لیتر جنتامایسین و ۱۵ میکروگرم در میلی لیتر نالیدیکسیک اسید می باشد، منتقل نمودیم. سپس به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه کردیم. به وسیله لوپ استریل مقداری از این محیط را به محیط بلادآگار تلقیح کرده و کشت می دهیم تا کلنی های ایزوله بدست آید (۶). پلیت های بلادآگار حاوی ۵٪ خون دفیبرینه گوسفند می باشد. پس از کشت به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد و Candle jar واجد ۵٪ CO_2 قرار داده می شوند. بعد از ۲۴ ساعت کلنی هایی که روی پلیت رشد می کنند عمدتا" کوکسی های گرم مثبت هستند که به دو جنس استرپتوکوک و استافیلوکوک تعلق دارند. برای ایزوله نمودن و حذف استافیلوکوک ها از تست کاتالاز استفاده شد. در این تحقیق کوکسی های گرم مثبتی که کاتالاز منفی بودند از کشت اولیه بلادآگار انتخاب شده و تست های اختصاصی برای تمایز گونه های مختلف جنس استرپتوکوک انجام گردید. تست های فوق عبارت از همولیز B (که یک هاله کاملا" روشن در اثر لیز کامل گلبول های قرمز مشخص می شود)، واکنش CAMP، تولید پیگمان در شرایط بی هوازی، هیدرولیز هیپورات سدیم، حساسیت به دیسک های باسیتراسین ۳٪ واحد، SXT (تری متوپریم سولفامتوکسازول)، رشد در محیط حاوی ۶/۵ درصد کلرور سدیم می باشد (۷).

لازم به ذکر است اگر تنها به ظاهر کلنی، رنگ آمیزی گرم و آرایش باکتری و نمونه تهیه شده از کلنی و نوع همولیز در بلادآگار اکتفا شود امکان اشتباه GBS با سایر استرپتوکوک ها به ویژه استرپتوکوک گروه D وجود دارد. لذا برای تمایز GBS حتما" باید تست های CAMP و هیدرولیز بایل اسکولین انجام شود.

روش کار جهت آزمون PCR: سوآپ های که در لوله های حاوی PBS قرار داده بودیم را به آزمایشگاه منتقل و تا زمان انجام

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

آزمایش در ۷۰ °C – قرار می دهیم. جهت استخراج DNA از کیت Bioneer (ساخت کره) استفاده نمودیم. ابتدا نمونه هایی که در ۷۰ °C – ذخیره کرده بودیم از فریزر خارج نموده و بر اساس پروتکل کیت، مراحل استخراج DNA را انجام دادیم. بعنوان کنترل مثبت DNA ژنومی خالص شده از استرپتوکوک گروه B که از آزمایشگاه رفرنس تهیه شده بود استفاده نمودیم. در این مطالعه یک قطعه اختصاصی از ژن *cfb* استرپتوکوک گروه B به اندازه 153bp را تکثیر نمودیم. توالی پرایمرهای اختصاصی مورد استفاده عبارتند از: Sag^{059}, Sag^{190} که جهت تکثیر DNA ژنومی بعنوان الگو انتخاب شده بودند (۸و۹).

Sag^{59}: 5′-TTTCACC AGCTGTATTA GAATA-3′
Sag^{190}:5′-GTTCCCTGAACATTATCTTTGAT-3′

بعد از انجام مراحل آزمایش کیت DNA های استخراج شده را در ۲۰°C – قرار دادیم.

روش PCR: نمونه های DNA استخراج شده زنان باردار و DNA سوش استاندارد را از یخچال خارج نموده و به ترتیب در هر run تعدادی از نمونه ها، یک کنترل منفی و یک کنترل مثبت را آزمایش نمودیم. جهت تکثیر ابتدا Master mix را به مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۴°C قرار داده تا مرحله intial cycle انجام گیرد بعداز آن ۳۵ چرخه در دمای ۹۴ °C به مدت ۱ دقیقه جهت Denaturation و سپس ۳۵ چرخه در دمای ۴۳°C به مدت ۱ دقیقه برای مرحله Annealing و ۳۵ چرخه در دمای ۷۲°C به مدت یک دقیقه برای Extension و نهایتا" یک چرخه در دمای ۷۲°C برای ۳ دقیقه انجام شد. متعاقبا" ۱۰ میکرولیتر از مخلوط حاصله بر روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شد. کل این فرآیند ۱۰۵ دقیقه بطول انجامید.

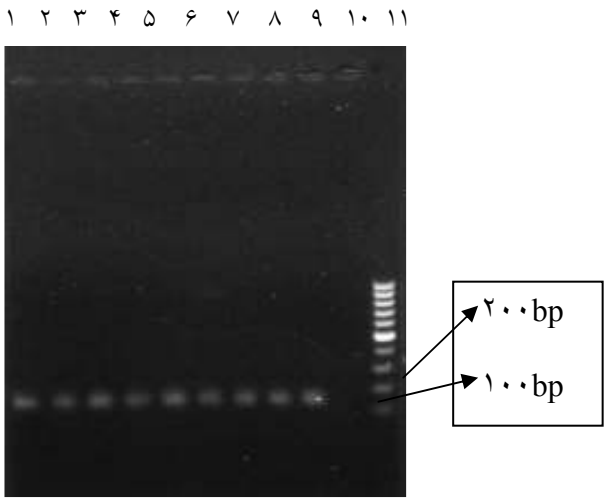
میزان کلونیزاسیون بر اساس نتایج کشت و آزمون PCR در مورد هر نمونه محاسبه شد حساسیت و ویژگی و ارزش اخباری مثبت بر اساس روش STATA 8 (Stata corp LP, College station, TX) بر روی برنامه ویندوز XP و همچنین نتایج آماری با استفاده از نرم افزار SPSS محاسبه گردید (۱۰).

یافته ها:

از میان ۱۲۵ خانم باردار با استفاده از روش کشت ۱۰ نفر حامل استرپتوکوک های گروه B بودند (۸٪)، و با استفاده از آزمون PCR، ۱۲ نفر حامل بودند (۹۶/۶٪). این نتایج بر اساس کشت و آزمون PCR برای نمونه های واژینال و مقعدی (هردو) بوده است. بر اساس نتایج PCR، ۲ نفر حامل GBS تشخیص داده شدند که به وسیله روش کشت نتیجه منفی داشتند (جدول ۱).

میزان ۸/۳٪ از افرادی که با روش PCR آلوده تشخیص داده شدند از هیچ روشی برای پیشگیری استفاده نمی کردند و ۲۵٪ از قرص استفاده می کردند. درآزمون کشت ۱۰٪ از افراد آلوده ازهیچ روشی استفاده نمی کردند و ۲۰٪ از قرص استفاده می کردند. میزان ۶۰٪ ازکسانی که آلوده بوده اند از IUD استفاده کرده اند. ۱۸٪ از افرادی که با روش PCR آلوده تشخیص داده شدند سابقه سقط داشتند.۳۳٪ از افرادی که با روش PCR آلوده تشخیص داده شدند به بیماری تناسلی مبتلا بوده اند (درآزمون کشت۲۷/۳٪). ۱۶/۷٪ از افرادی که با روش PCR آلوده تشخیص داده شدند سابقه مصرف آنتی بیوتیک داشتند (درآزمون کشت ۲۰٪).

میزان توافق در روش کشت و PCR برای نمونه های گرفته شده از واژن و مقعد در افرادی که دارای سابقه سقط، سابقه سزارین، سابقه اخیر مصرف آنتی بیوتیک و دارا بودن نوزاد بیمار بعد از تولد و با ضریب کاپای ۱۰۰٪ از نظر آماری در سطح معناداری با ۵٪ با P-value کمتر از ۰/۰۰۱ معنا دار می باشد. میزان کلونیزاسیون با توجه به متغیرهای روش های مختلف جلوگیری از بارداری معنادار نبود و فقط در مورد کسانی که دارای IUD بودند ارزشمند و معنادار می باشد (جدول ۲). با در نظر گرفتن روش کشت به عنوان استاندارد، حساسیت روش PCR (۱۰۰٪) و ویژگی آن ۹۸٪ می باشد. ارزش اخباری مثبت آزمون PCR، ۸۳٪ و ارزش اخباری منفی آن ۱۰۰٪ بدست آمد (نمودار ۱).



شکل (۱): نتایج حاصل از PCR نمونه های بالینی

ردیف ۸-۱: نمونه های بالینی

ردیف ۹: کنترل مثبت

ردیف ۱۰: کنترل منفی

ردیف ۱۱: سایز مارکر

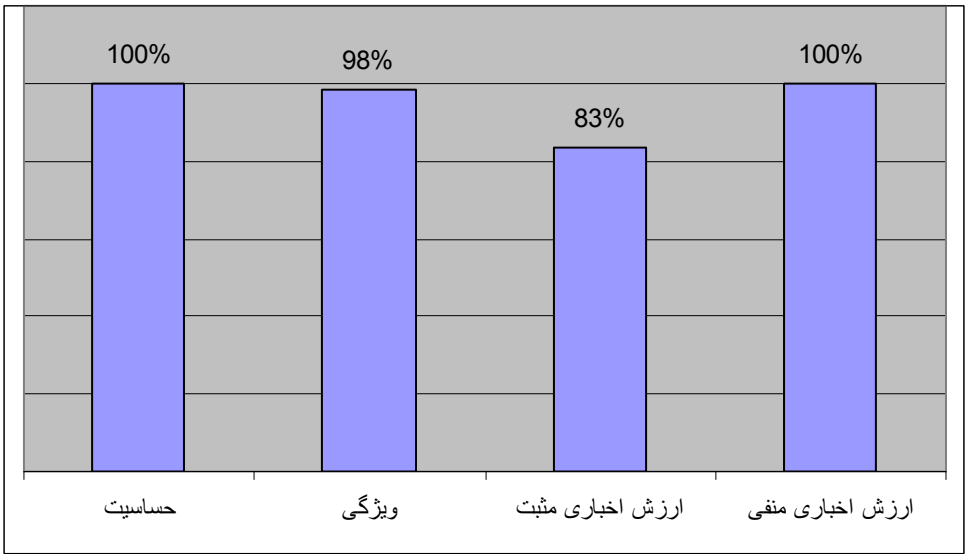
جدول شماره ۱: فراوانی موارد مثبت و منفی بر اساس نتایج کشت PCR

نتیجه تست / نوع کشت	مثبت		منفی		جمع	
	تعداد	%	تعداد	%	تعداد	%
PCR	۱۲	۹/۶	۱۱۳	۹۰/۴	۱۲۵	۱۰۰
کشت	۱۰	۸	۱۱۵	۹۲	۱۲۵	۱۰۰

جدول شماره ۲: میزان آلودگی به GBS بر حسب متغییرهای مختلف و به تفکیک روش آزمایش

نوع کشت / متغیر	کشت		PCR	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
سابقه سقط	۲	۱۸/۲	۲	۱۸/۲
سابقه سزارین	۲	۲۲/۲	۲	۱۸/۲
سابقه بیماری تناسلی	۳	۲۷/۳	۳	۳۳/۳
سابقه بیماری پس از تولد	۲	۲۰	۲	۱۶/۷
سابقه مصرف آنتی بیوتیک	۲	۲۰	۲	۱۶/۷
سابقه عفونت مجرای ادراری	۴	۴۰	۴	۳۳/۳
• روش جلوگیری از بارداری				
۱- هیچ روشی	۱	۱۰	۱	۸/۳
۲- طبیعی	۰	۰	۱	۸/۳
۳- قرص	۲	۲۰	۳	۲۵
۴- IUD	۶	۶۰	۶	۵۰
۵- ریتمیک	۰	۰	۰	۰
۶- کاندوم	۱	۱۰	۱	۸/۳

نمودارشماره ۱: حساسیت و ویژگی آزمون PCR نسبت به روش کشت استاندارد



بحث:

در این مطالعه ما میزان شیوع GBS را براساس آزمایشات کشت استاندارد و PCR بررسی نمودیم که آزمایشات کشت از ۷۲-۴۸ ساعت طول می کشد اما با PCR حدوداً ۲ساعته می توان کلونیزاسیون GBS را با اطمینان و به سرعت مشخص نمود و نتایج حاصله، توافق این دو روش را در تعیین میزان GBS تائید می نماید.

در این تحقیق ۱۲۵ زن باردار (ازواژن ومقعد ازهرنفردو نمونه مجموعاً ۲۵۰ نمونه) مورد بررسی قرار گرفت که به دو روش کشت استاندارد و PCR آزمایش گردیدند. میزان استرپتوکوک گروه B جدا شده از طریق کشت ۱۰ مورد (۸٪) و از طریق روش PCR ۱۲ مورد (۹/۶٪) بود. اختلاف در نتایج این دو روش ناشی از تفاوت قدرت جداسازی و تعیین هویت این ارگانیسم ها با دو تکنیک فوق می باشد. بطوریکه اگر تشخیص نهایی بر پایه جدا سازی ارگانیسم به کمک کشت و مشاهده کلنی قرار گیرد ممکن است موارد مثبتی را از دست بدهیم، درصورتیکه تکنیک PCR حداقل میزان نمونه را شناسایی می کند بطوریکه پس از ۲۵ سیکل بیش از یک میلیون کپی از DNA مورد نظر ایجاد می شود. با توجه به اینکه هدف اصلی این پژوهش مقایسه دو تکنیک کشت و PCR در جدا سازی و تعیین هویت استرپتوکوک گروه B و همچنین ارائه یک روش سریع، حساس و مناسب جهت تشخیص این ارگانیسم در زنان باردار بود، برای رسیدن به منظور فوق نمونه های جمع آوری شده با دو تکنیک مورد بررسی و نتایج ثبت گردید. و میزان حساسیت و ویژگی تکنیک PCR را در مقابل روش کشت که بعنوان Gold standard فرض شده است محاسبه نمودیم. محاسبات آماری نشان می دهد که حساسیت تکنیک PCR در برابر کشت ۱۰۰درصد و ویژگی آن ۹۸٪ می باشد. ارزش اخباری مثبت آن ۸۳٪ و ارزش اخباری منفی ۱۰۰٪ می باشد.

یک مطالعه توسط Dmitriev و همکاران در سال ۲۰۰۳ جهت تشخیص GBS با روش PCR انجام شد. در آن مطالعه ۷۱ نمونه با روش کشت، الکتروفورز وPCR مورد بررسی قرار گرفت. از میان ۷۱ نمونه مورد بررسی هیچ کدام با روش کشت مثبت نبودند در حالیکه با دو روش دیگر به ترتیب ۱۱ و ۳۶ نمونه مثبت شدند (۹). اگرچه این گروه نتوانسته اند استرپتوکوک گروه B را با روش کشت جدا نمایند، این عدم تجانس در میزان آلودگی گزارش شده نه تنها به اختلاف جوامع مورد بررسی از نظر سن، تعداد زایمان، وضعیت اقتصادی و مکان جغرافیایی بستگی دارد بلکه به استاندارد نبودن روش های کشت نیز مربوط می شود. اختلافات واقعی در

جوامع نیز یکی از علل عدم انطباق در میزان آلودگی های گزارش شده می باشد.

در مطالعه ای که توسط El-Kersh TA و همکاران در سال ۲۰۰۲ در عربستان سعودی انجام گرفت ۲۱۷ زن باردار را مورد مطالعه قرار داده و بوسیله کشت در محیط اسلام آگار و Selective lim broth میزان شیوع GBS را در نمونه های واژن ۲۲ نمونه (٪۳۳) و در نمونه های مقعد ۱۱ نمونه (٪۱۷) را تشخیص داده و میزان ویژگی ٪۱۰۰ و حساسیت ٪۸۴ را برای تکنیکی که از اسلام آگار استفاده نموده بودند گزارش و میزان ویژگی ٪۹۶ و حساسیت ٪۱۰۰ را برای Selective Lim broth گزارش نموده اند (۱۱).

در مطالعه ای که توسط Anita Shet و همکاران در سال ۲۰۰۴ انجام گرفته و مروری بر عفونت های ناشی از استرپتوکوک گروه B داشته است روش کشت را بعنوان انتخاب اول و در تعیین کلونیزاسیون GBS مطرح نموده است و اظهار نموده که تست های سریع دیگر برای تشخیص GBS نیز به کار می روند مانند Latex agglutination که اگرچه دارای ویژگی ٪۹۵ می باشند اما از حساسیت کمی (٪۶۵-۳۳)برخوردارند و در مطالعه ما حساسیت روش PCR (٪۱۰۰) و ویژگی آن (٪۹۸) بدست آمده است (۳).

F.J. Picard. M.G. Bergeron در سال ۲۰۰۴ مطالعه ای مروری بر روش های تشخیصGBS داشته اند که از روش های کشت با استفاده از محیط Selective enrichment استفاده شد و نتایج بدست آمده حاکی از آن بود که گاهی نتیجه منفی کاذب بدست می آید و روش های ایمونولوژیکی بکار رفته نیز نتایج مثبت و منفی کاذب به ما می دهند و از روش PCR بعنوان یک روش با حساسیت و ویژگی بالا برای تعیین ناقلین نام برده است و نتایج با آزمایش PCR حساسیت ٪۹۷ ویژگی ٪۱۰۰ بدست آمده که ارزش اخباری مثبت آن ٪۱۰۰ و ارزش اخباری منفی ٪۹۸/۸ را گزارش می نماید (۱۲).

Eren A و همکاران در سال ۲۰۰۵ در ترکیه مطالعه ای انجام داده اند که ۵۰۰ نمونه خانم های حامله را مورد بررسی قرار داده که درصد آلودگی را ٪۹/۲ گزارش نموده اند و با توجه به همسایگی آن با کشور ما نتایج تحقیق ما نیز از نزدیکی درصد آلودگی به GBS در دو کشور خبر می دهد (۱۳).

UhI JR. و همکاران در سال ۲۰۰۵ برای تعیین ناقلین GBS، نمونه های گرفته شده از رکتوم و واژن را به دو روش Real-time PCR مورد بررسی قرار دادند که نتایج بدست آمده حاکی از حساسیت (٪۱۰۰) و ویژگی (٪۹۷) و ارزش اخباری مثبت (٪۹۰) و ارزش اخباری منفی (٪۱۰۰) بود که با نتایج بدست آمده از تحقیق ما هم خوانی دارد (۱۴).

مطالعه ای توسط Chan KL. و همکاران در سال ۲۰۰۶ انجام شده که ۱۴۳ خانم باردار را از نظر ناقلی میکروب GBS با دو روش کشت PCR مورد بررسی قرار داده اند که حساسیت و ویژگی PCR را ٪۹۹ گزارش نموده اند و تعداد نمونه های مثبت را ۲۰ (٪۱۴) گزارش نموده اند و ارزش اخباری منفی و مثبت را به ترتیب ٪۹۲ و ٪۹۰ گزارش نموده اند که زمان آزمایش کمتر از ۲/۵ ساعت برای PCR و برای کشت حداقل ۲۴ ساعت گزارش شده است (۱۵).

در مطالعه ای که توسط Atkins KL. و همکاران در سال ۲۰۰۶ به منظور تعیین میزان ناقلین GBS به روش PCR صورت گرفته است که با تعیین حضور ژن *cfb* بوسیله آزمون PCR از نمونه های واژن و رکتوم انجام گرفته است از مجموع ۲۳۳ نمونه مورد آزمایش ۵۹ نمونه (٪۲۵)آلوده بوده اند که حساسیت PCR را ٪۸۶/۸ و ویژگی آن ٪۹۵/۲ درصد گزارش شده است و ارزش اخباری مثبت ٪۸۸/۱ و ارزش اخباری منفی ٪۹۴/۶ گزارش شده است (۱۷).

مطالعه دیگری توسط Fabien Rallu وهمکاران در سال ۲۰۰۶ که از روش PCR و کشت و شناسایی آنتی ژن جهت حاملین GBS استفاده نمودند که ۶۰۵ نمونه تست شده بوسیله این روش ها با روش کشت ۹۶ نمونه (٪۱۶) و با روش PCR (ژن *Cfb*) ۱۷۱ نمونه (٪۲۸) و با استفاده از PCR (ژن SCP B) ۲۲۶ نمونه مثبت (٪۳۷) بدست آوردند. در مطالعه فوق حساسیت و ویژگی PCR با ژن SCP D به ترتیب ٪۹۹/۶ و ٪۱۰۰ بوده در مورد PCR با ژن *Cfb* به ترتیب ٪۷۵/۳ و ٪۱۰۰ بود و حساسیت و ویژگی شناسایی آنتی ژن ٪۵۷/۳ و ٪۹۹/۵ و برای کشت ٪۴۲/۳ و ٪۱۰۰ گزارش گردید. در این تحقیق ارزش اخباری منفی برای PCR (ژن *Cfb*) ٪۱۰۰ (۱۰۰-۹۸) و برای کشت ٪۱۰۰ (۱۰۰-۹۶) بوده و ارزش اخباری مثبت برای PCR (ژن *Cfb*) ٪۸۷/۱ (۹۰-۸۴) و برای کشت ٪۷۴/۳ (۷۸-۷۰) می باشد(۴).

بررسی مطالعات محققین، نتایج متفاوتی را نشان می دهد. به طوری که Dmitriev (۹) میزان جداسازی با کشت را صفر ودر مقابل قابلیت تشخیص با الکتروفورز ٪۱۵/۵ و PCR ٪۵۰/۷ اعلام نموده است. درحالی که درمطالعه دیگر توسط Anita Shet عکس نتایج

به دست آمده توسط Dmitriev را اعلام نموده است. به طوری که کشت را به عنوان انتخاب اول وتست های دیگر مانند Latex Agglutination را درمرحله بعدی قرارداده است (۳). اما اکثر محققین انواع روش های PCR را روشی مناسب با حساسیت و ویژگی بالا که درزمان کوتاهی قابلیت تشخیص استرپتوکوک گروه B را دارد، معرفی نموده اند (۱۵و۱۲و۴و۲).

نتایج ما نشان می دهد که میزان شیوع استرپتوکوک گروه B در واژن و رکتوم زنان باردار به یک میزان است (۸٪). درحالی که در مطالعه El-Kersh درعربستان، ۳۳٪ نمونه های واژن درمقابل ۱۷٪ نمونه های رکتال مثبت بوده است (۱۱).

اما درمطالعات انجام شده درایران هیچ یک از محققین در خصوص ارزیابی روش استاندارد کشت با روش های دیگر از جمله PCR، الکتروفورز ولاتکس بررسی ننموده اند. نتایج کشت بدست آمده از این مطالعات نشان داده که میزان جداسازی حاملین GBS در ایران از۵٪ تا ۱۸٪ متفاوت بوده ومیزان نتایج ما نیز درهمین محدوده قرار دارد (۱۷).

نتیجه گیری:

نهایتا" با توجه به مزایا و معایب تکنیک PCR و همچنین مشکلات روش کشت و طولانی بودن زمان آن در تشخیص استرپتوکوک های گروه B، تکنیک PCR به عنوان ابزار تشخیصی ارزشمند درجدا سازی استرپتوکوکهای گروه B پیشنهاد می شود زیرا دارای سرعت، حساسیت و ویژگی بالا در تشخیص می باشد. با توجه به اینکه جداسازی آن بوسیله کشت به علت فراوانی میکروفلور واژن ونیاز به زمان طولانی (۷۲-۳۶ ساعت) و همچنین وجود یک کارشناس ماهر که قادر به تشخیص کلنی های مربوطه باشد، مشکل است اما با تکنیک PCR می توان این زمان را به کمتر از ۲ ساعت تقلیل داد و با توجه اینکه شیوع این میکروارگانیسم در زنان باردار مشکل آفرین و باعث بیماری بعد از زایمان و همچنین مرگ و میر در نوزادان بعد از تولد می گردد و همچنین بر طبق پیشنهاد CDC که کلیه زنان باردار بین هفته ۳۷-۳۵ بارداری باید از نظر حامل بودن GBS بررسی و آنتی بیوتیک درمانی شوند و به منظور استفاده به جا و به موقع آنتی بیوتیک و جلوگیری از مصرف بی مورد آنتی بیوتیک در غیر ناقلین، کوتاه شدن زمان تشخیص توسط تکنیک فوق و دقیق بودن تشخیص حائز اهمیت می باشد. درنهایت به منظور بهبود و توسعه تست های تشخیصی نوین، مشاهده وتفسیر مجدد تست های استاندارد ضروری می باشد.

با توجه به نتایج مطالعه، این گونه می توان استنباط کرد که روش PCR دارای حساسیت و ویژگی بالایی بوده وکلونیزاسیون استرپتوکوک گروه B را با اطمینان و به سرعت می توان تشخیص داد.

فهرست مراجع:

1. Schuchat A. Epidemiology of group B streptococcal disease in the United States: Shifting paradigms. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11:497-513.
2. Convert M, Martinetti Lucchini G, Dolina M, and J.C.Piffaretti.. Comparison of Light cycler PCR and culture for detection of group B Streptococci from vaginal swabs. Istituto G.C. Cantonale di Microbiologia, Bellinzana, Switzerland. 2005.
3. Shet A, and Ferrieri P. Neonatal & maternal group B Streptococcal infections: A Comprehensive review. *Indian J Med Res* 2004; 120:141-150.
4. Rallu F, Barriga P, Scrivo C, Martel-Laferriere V, and Laferriere C. Sensitivities of antigen detection and PCR assays greatly increased compared to that of the standard culture method for screening for group B streptococcus carriage in pregnant women. Journal of Clinical Microbiology, Mar. 2006; P. 725-728.
5. Votava M, Tejkalova M, Drabkova M, Unzeitig V, and Braveny I. Use of GBS media for rapid detection of group B streptococci in vaginal and rectal swabs from women in labor. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20: 120-122.
6. Schrag SR, Grwitz K, Bultz-Butts F, and Schuchuchat A. Prevention of perinatal group B Streptoccoccal disease. Revised guidelines from CDC. Morb. *Mortal Wkly. Rep Recomm. Rep* .2005; 51: 1-22.
7. Ke D, Menard C, Picard FJ, Boissinot M,

Ouellette M, Roy P, and Bergeron MG. Development of conventional and real-time PCR assays for the rapid detection of group B streptococci. *Clin Chem* 2000; 46: 324-331.
8. Michel G. Bergeron M, and Menard S. Rapid detection of group B streptococci in pregnant women at delivery. *New England J Med* 2005; 343(3): 175-179
9. Dmitriev AA, Suvorov AD, Shen Y and Yang H. Clinical diagnosis of group B streptoccocci by sepB gene bascd PCR. *Indian J Med Res* 2004; 119(Suppl.): 233-236.
10. Seed PT. Summary statistics for diagnostic test. *Stata Technical Bull* 2001; 59:9-12.
11. EL-Kersh TA, Al-Nuaim LA, and Kharfy TA. Detection of genital colonization of group B streptococci during late pregnancy. *Saudi Med J* 2002; 23(1): 56-61.
12. Picard FJ, Bergeron MG. Laboratory detection of group B streptococcus for prevention of perinatal disease. *Far J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23: 665-671.
13. Eren A, Kucukercon M, Oguzoglu N, Unal N, Karateke A., The carriage of group B streptococci in Turkish pregnant women and its transmission rate in newborns jand serotype distribution. *Turk J Pediater* 2005; 47(1): 28-33.
14. Uhi JR, Vetter EA, Boldt KL, Johnston BW, Ramin KD., Use of the Roche LightCycler Strep B assay for detection of group B Streptococcus from vaginal and rectal swabs. *J Clin Microbiol* 2005; 43(8): 4046-4051.
15. Chan KL, Levi K, Towner KJ, Weston VC, Ramsay MM, Kean LH. J, Evaluation of the sensitivity of a rapid polymerase chain reaction for detection of group B Streptococcus. Obstet Gynaecol 2006; 26 (5):402-406.
16. Atkins KI, Atkinson Rm, Shanks A, Parvin CA, Dunne WM, Gross G. Evaluation of polymerase chain reaction for group B streptococcus detection using an improved culture method. Obstet Gynecol. 2006 ; 108: 488-491.
17. Nili F, Nayeri F, Borna S. Relationship between the prevalent microbial organisms of neonatal sepsis and microbial flora colonized in vagina and rectum of pregnant women. The Journal of Faculty of Medicine 2006; 63: 859-68.