بررسی میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی و سروتایپینگ کپسولی استرپتوکوکوس اگالاکتیه جداشده از خانم‌های باردار بین هفته ۳۵ الی ۳۷ حاملگی

حمید برناسی[۱](M.Sc)، احسان‌اله غزنوی راد[۱و۲](Ph.D)، نسیم فرد موسوی[۱](M.Sc)، سلیمان زند [۳](B.Sc)، حمید ابطحی [*۲](Ph.D)

۱- *گروه میکروب‌شناسی و ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران*

۲- *مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران*

۳- *گروه پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران*

چکیده

سابقه و هدف: استرپتوکوکوس آگالاکتیه (استرپتوکوکوس گروه B (GBS) ساکن طبیعی دستگاه گوارش و ادراری-تناسلی است به طوری که از مجرای ادراری- تناسلی و گوارش زنان بالغ سالم جدا می‌شود. این باکتری به‌عنوان شایع‌ترین علت سپسیس، منتژیت، پنومونی و بیماری‌های شدید در نوزادان تازه متولد شده می‌باشد.

مواد و روش‌ها: از ۵۰۰ خانم باردار طی هفته ۳۵ الی ۳۷ بارداری از ناحیه واژن نمونه‌گیری شد. سپس آنتی‌بیوگرام به روش دیسک دیفیوژن بر روی محیط مولر هینتون آگار ۵٪ خون گوسفندی و سروتایپینگ کپسولی انجام و نتایج تفسیر گردید برای تایید نهایی از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز PCR (Polymerase Chain Reaction) برای ژن ۱۶ Sr RNA استفاده گردید.

یافته‌ها: تعداد ۶۰ نمونه باکتری استرپتووکوکوس آگالاکتیه ایزوله گردید (۱۲٪). برای ۶۰ نمونه تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی انجام شد. کم‌ترین مقاومت مربوط به پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین و ونکومایسین (۰٪)، سفازولین (۳/۳۳٪) و سفتازدیم (۵٪) و در حالی‌که بیش‌ترین مقاومت نسبت به اریترومایسین (۲۸/۳۳٪)، کلیندامایسین (۱۵٪) تتراسیکلین (۹۶/۶۶٪) می‌باشد. فراوانی سروتایپ‌های کپسولی نیز به ترتیب (۴۵٪) III، (۱۸/۳۳٪) Ia، (۱۶/۶۶٪) II، V (۱۳/۳۳٪) و (۵٪)Ib به‌دست آمد.

نتیجه‌گیری: شیوع قابل توجه این باکتری در زنان باردار و وجود مواردی از مقاومت به اریترومایسین و کلیندامایسین در ایزوله‌های استرپتوکوکوک گروه B یافت گردیده در این مطالعه موید این نکته است که تمام خانم‌های باردار در سن ۳۵-۳۷ هفتگی می‌بایست تحت غربالگری قرار گرفته و مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها مورد بررسی قرار گیرد تا از عواقب خطرناک آن هم برای مادر و هم برای نوزاد جلوگیری کرد.

واژه‌های کلیدی: استرپتوکوکوس آگالاکتیه، مقاومت میکروب به دارو، عفونت‌های استرپتوکوکی/ پیشگیری

مقدمه

استرپتوکوکوس آگالاکتیه {استرپتوکوکوس گروه B {(GBS) ساکن طبیعی دستگاه گوارش و دستگاه تناسلی- ادراری است. به طوری که از مجرای ادراری- تناسلی و گوارش حدود ۲۵٪ از زنان بالغ سالم جدا شده است [۲،۱]. بین ۷۰-۴۰٪ از زنان باردار آلوده باکتری را در حین تولد به نوزادان خود انتقال می‌دهند. علی‌رغم پیشرفت‌های قابل توجه و اساسی در پیشگیری از بیماری GBS بعد از سال ۱۹۹۰

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۶-۳۲۲۲۷۱۰۹

Email: abtahi@arakmu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۴

هنوز هم این باکتری به‌عنوان شایع‌ترین علت سپسیس زود رس، منتژیت، پنومونی و بیماری‌های شدید در مراحل اولیه زندگی نوزادان می‌باشد [۴،۳].

GBS شایع‌ترین علت عفونت و مرگ‌های عفونی در طول دوره نوزادی و شایع‌ترین علت منتژیت در سه ماه اول زندگی می‌باشد. از هر ۱۰۰۰ تولد حدود ۱٪ دچار عفونت با GBS می‌شوند، که در ۱۰٪ موارد منجر به فوت نوزاد می‌شود. حدود ۵۰٪ از نوزادان مبتلا با مشکلات متعدد عصبی زنده می‌مانند [۵].

اگر چه بسیاری از نوزادان آلوده شده با بستری و تجویز آنتی‌بیوتیک مناسب درمان می‌شوند، اما عوارض عصبی ناشی از عفونت در گروهی از نوزادان مشکلات زیادی ایجاد می‌کند. میزان مرگ و میر به‌طور متوسط در حدود ۱٪ می‌باشد [۶،۴].

آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مانند پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین به‌عنوان داروهای خط اول برای درمان و پیشگیری از عفونت‌های GBS مورد استفاده می‌باشد. آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولید برای درمان افرادی که به بتالاکتام‌ها آلرژی دارند به کار می‌رود. مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌هایی مثل کلیندامایسین و اریترومایسین در مطالعاتی که در یک دهه اخیر در چندین کشور انجام شده در حال افزایش است [۷،۳،۱].

کپسول پلی ساکاریدی جزء فاکتور ویرولانس باکتری GBS می‌باشد، که مانع فاگوسیتوز باکتری و فرار آن از دست سیستم ایمنی میزبان می‌گردد. باکتری بر اساس آنتی‌ژن‌های پلی‌ساکارید کپسولی به ۱۰ سروتایپ (Ia-Ib-II-III-IV-V-VI-VII-VIII-IX) تقسیم می‌شود، گروه ژن‌های cps مسئول تولید کپسول در باکتری GBS است. تولید واکسن با استفاده از کپسول پلی‌ساکاریدی، جهت پیشگیری از بیماری‌های GBS مطرح می‌باشد. با توجه به این‌که فراوانی نوع سروتایپ کپسولی این باکتری در نقاط مختلف جهان متفاوت می‌باشد. لذا مطالعه سروتایپ کپسولی این باکتری در نقاط مختلف کشور و تعیین شایع‌ترین نوع سروتایپ کپسولی در تهیه و تولید واکسن مناسب، لازم است [۸،۳].

با توجه به اهمیت عفونت GBS در نوزادان تازه متولد شده و ارائه دستوالعمل توسط مرکز کنترل بیماری‌ها (CDC) در سال ۲۰۱۰ جهت غربالگری روتین تمام زنان باردار و پیشگیری از عفونت GBS و با توجه به این‌که غربالگری خانم‌های باردار طی هفته ۳۵ الی ۳۷ بارداری در کشورهای توسعه یافته اجرا می‌شود. لذا ضرورت انجام این تست در ایران به‌عنوان یک طرح اجباری از سوی وزارت بهداشت و یک روش روتین برای تشخیص GBS و درمان آنتی‌بیوتیکی آن احساس می‌شود. لذا هدف از این تحقیق بررسی میزان شیوع این باکتری در خانم‌های باردار و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تایپینگ آن و در نتیجه ضرورت اجرای طرح می‌باشد [۱۰،۹].

مواد و روش‌ها

در طی هفته‌های ۳۵ الی ۳۷ بارداری از ۵۰۰ خانم باردار مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های شهر اراک با روش سواپ رکتال از ناحیه واژن نمونه‌برداری انجام شد. تست‌های بیوشیمیایی لازم جهت جداسازی و تشخیص قطعی GBS شامل: تولید همولیز بتا در محیط کشت بلاد آگار با ۵٪ از خون گوسفندی، تست CAMP مثبت، مقاومت به دیسک‌های باسیتراسین (۰۴/۰) SXT (U) سولفا متوکسازول ۷۵/۲۳ – µg تری متو پریم ۲۵/۱ (µg) انجام شد. تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن انجام شد، جهت بررسی مقاومت باکتری GBS نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، ونکومایسین، سفازولین، سفتازدیم، کلیندامایسین، اریترومایسین و تتراسیکلین از محیط کشت مولر هینتون آگار (MERCK)حاوی ۵٪ خون گوسفندی و دیسک‌های MAST انگلستان و شرایط دمایی ۳۷ °C و ۵٪ CO2 و بر اساس راهنمایی CLSI صورت گرفت [۱۲،۱۱].

برای تایید تشخیص فنوتیپی ابتدا DNA ایزوله‌ها با استفاده از کیت استخراج DNA محصول کره جنوبی (Bio flux bioer) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استخراج گردید.

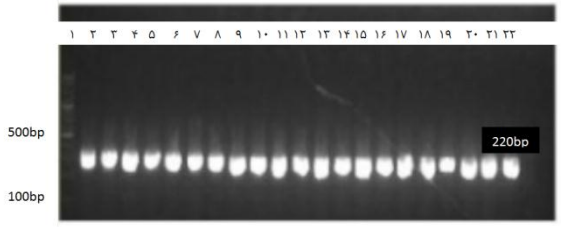
سپس از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ۱۶ S rRNA استفاده گردید که پرایمرها شامل Fl 5'-GAG TTT GAT CAT GGC TCA G-3'به‌عنوان سنس و IMOD 5'-ACC AAC ATG TGT TAA TTA CTC-3' به‌عنوان آنتی‌سنس می‌باشد استفاده گردید. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر که شامل یک میکرولیتر MgC l2 (۵۰mM)، ۲/۵ میکرولیتر از PCR ۱۰x، ۰/۵ میکرولیتر dNTP (۱۰mM)، ۰/۵ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها (۲۰pM)، ۲ میکرولیتر (DNA) (۵۰۰ ng/µl) و ۰/۳ واحد آنزیم Taq polymerase (۵ u/µl) از شرکت یکتا تجهیز آزما (ایران) می‌باشد. ابتدا مخلوط واکنش به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس ۳۲ سیکلPCR در ترموسیکلر eppendorf (Germany) با شرایط زیر ادامه پیدا کرد. دما و زمان مناسب برای واسرشتی DNA، ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه، برای اتصال پرایمر دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۰ سیکل اول به‌مدت ۳۰ ثانیه و ۵۱ درجه سانتی‌گراد برای ۲۲ سیکل بعدی به‌مدت ۳۰ ثانیه و برای تکثیر آن‌ها هم ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه می‌باشد. برای تکثیر نهایی نیز به‌مدت ۴ دقیق در ۷۲ درجه سانتی‌گراد واکنش صورت گرفت. از استرپتوکوکوس آگالاکتیهPCTC1768 نیز به‌عنوان کنترل استفاده گردید [۱۳]. از هر گروه کپسولی یک نمونه از محصول ژن ۱۶S rRNA برای سکوئنسینگ ارسال گردید.

جهت نگه‌داری باکتری‌های GBS جداشده از محیط کشت Todd-Hewitt broth حاوی ۱۰٪ گلیسرول در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد استفاده شد.

جهت شناسایی نوع پلی‌ساکارید کپسولی باکتری‌های GBS جدا شده، از کیت Group-B Streptococci Typing Antisera شرکت MAST استفاده شد. برای این منظور از کلنی خالص باکتری GBS در محیط کشت Todd-Hewitt broth تلقیح کرده، در دمای ۲۹-۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون می‌کنیم. سپس مراحل بعدی را مطابق دستورالعمل کیت انجام می‌دهیم [۱۲].

نتایج

در این مطالعه ۶۰ سویه باکتری GBS طی مدت ۸ ماه (اردیبهشت لغایت بهمن ۱۳۹۲) طی نمونه‌برداری از ناحیه واژینال ۵۰۰ خانم باردار (هفته‌های ۳۵ الی ۳۷ بارداری) مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های شهر اراک با شیوع ۱۲٪ به‌دست آمد. تمامی باکتری‌های به‌دست آمده کوکس‌های گرم مثبت، کاتالاز منفی، همولیز بتا، مقاوم به باسیتراسین و SXT و تست CAMP مثبت بودند. تمامی ایزوله‌ها در واکنش PCR قادر به تولید باند اختصاصی bp ۲۲۰ بودند. تمامی ایزوله‌ها از نظر ژن ۱۶S rRNA مثبت بودند (شکل ۱). پنج نمونه ارسالی برای سکوئنسینگ و نیز شباهت توالی نوکلئوتیدی را از طریق آنالیز BLAST تایید نمودند.

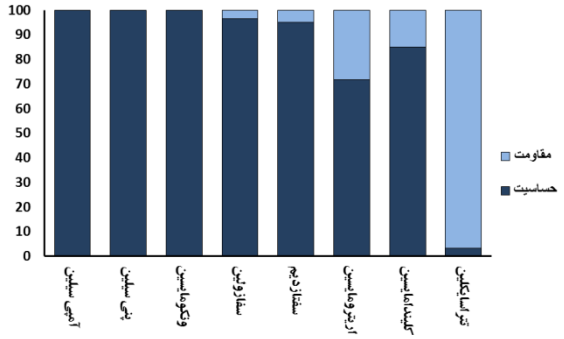


شکل ۱.تکثیر ژن 16S rRNA به روش PCR. ردیف ۱ ladder 100bp ، ردیف ۲۲-۲ نمونه های کلینیکی، ردیف ۲۲ کنترل مثبت PCTC 1768 ، ردیف ۲۳ کنترل منفی

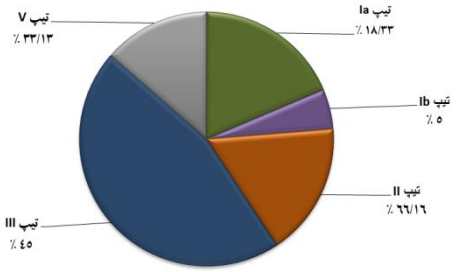
جهت بررسی فنوتایپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد. هیچ مقاومتی در پنی‌سیلین، آموکسی‌سیلین و ونکومایسن مشاهده نشد، در حالی که کم‌ترین مقاومت مربوط سفازولین (۳/۳۳٪) ۲ و سفتازدیم (۵٪) ۳ و بیش‌ترین مقاومت به اریترومایسین (۲۸/۳۳٪) ۱۷، کلیندامایسین (۱۵٪) ۹ و تتراسایکلین (۹۶/۶۶٪) ۵۸ به‌دست آمد (شکل ۲).

نتایج توزیع سروتایپ کپسولی نشان داد، بیش‌ترین سروتایپ مربوط به تیپ III با فراوانی (۴۵٪) ۲۷٪ می‌باشد. فراوانی سروتایپ‌ها به ترتیب Ia=۱۸/۳۳، II=۱۶/۶۶، V=۱۳/۳۳ و Ib=۵ درصد به‌دست آمد. سروتایپ‌های IV، VI ، VII، VIII و IX نیز مشاهده نشدند (شکل ۳).

مقاومت دوگانه بالایی در نتایج مشاهده شد، به‌طوری که از تعداد ۱۷ نمونه مقاوم به اریترومایسین، ۸ نمونه به کلیندامایسین نیز مقاومت داشته‌اند، میزان مقاومت القایی کلیندامایسین به اریترومایسن نیز در حدود ۴۱٪ مشاهده شد.



شکل ۲. میزان فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی



شکل ۳. توزیع فراوانی سروتایپ‌های کپسولی GBS

بحث و نتیجه‌گیری

باکتری GBS به‌ندرت عفونت در زنان باردار ایجاد می‌کند. نگرانی از انتقال GBS به نوزادان در حین تولد است. هیچ راه مطمئنی برای جلوگیری از انتقال GBS به نوزادان در حین تولد وجود ندارد. با وجود درمان‌های پزشکی، هر ساله برخی از نوزادان به‌علت این عفونت می‌میرند [۱۴]. سپسیس زودرس (EOS) در نوزادان همچنان به‌عنوان یک عارضه جدی و نگران‌کننده مطرح می‌باشد. عفونت (GBS) به‌عنوان عامل اصلی EOS و منتژیت می‌باشد.

شروع زودرس عفونت GBS در نوزادان را می‌توان با تجویز داخل وریدی آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین G به مادر در حین زایمان جلوگیری کرد، دستورالعمل بین‌المللی معرفی شده CDC در سال ۲۰۱۲ زنان باردار با خطر ریسک بالا را جهت درمان معرفی کرده است. در این میان افراد که به پنی‌سیلین آلرژی دارند باید جهت انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب تست حساسیت میکروبی AST انجام دهند [۱۱،۴].

مقاومت هم‌زمان GBS به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین و کلیندامایسین که به‌عنوان داروهای خط دوم درمان، در افراد آرژیک به پنی‌سیلین استفاده می‌شود بسیار بالا است. مکانیسم مقاومت GBS به اریترومایسین می‌تواند به‌دلیل یک افلاکس پمپ باشد، که توسط ژن‌های (A,E) mef کد می‌شود، و تحت عنوان فنوتیپ M (macrolide resistance phenotype) نامیده می‌شود. مکانیسم دوم به‌دلیل میتیلاسیون جزء ۲۳ s rRNA ریبوزومی توسط آنزیم erm است. که باعث جلوگیری از اتصال جزء کوچک ۳۰s ریبوزومی به جزء بزرگ ۵۰s می‌شود. که توسط ژن‌های (A,B) erm کد می‌شود. آنزیم erm باعث مقاومت GBS به اریترومایسین، کلیندامایسین و استرپتوگرامین می‌شود، که فنوتیپ MLS نامیده می‌شود [۱۵].

آنزیم erm می‌تواند تحت تاثیر آنتی‌بیوتیک کلیندامایسین القاء شود، تست مثبت D-zone تائیدکننده این مهم است. درمان با کلیندامایسین باعث فعال شدن آنزیم erm و مقاومت به اریترومایسین ایجاد می‌گردد [۱۷،۱۶].

نتایج میزان شیوع GBS در خانم‌های باردار در این مطالعه، نسبت به میانگین شیوع (۲۵٪) این باکتری درصد کمی را نشان می‌دهد [۲]. همچنین نسبت به مطالعه دیگر در ایران که توسط حبیب‌زاده و همکارانش انجام شد [۱۸]، میزان شیوع GBS ۸/۱۴٪ به‌دست آمد که در مقایسه با مطالعه ما (۱۲٪)، شیوع بیش‌تر دارد.

در مطالعه‌ی اخیری که در کشور آمریکا انجام شد، میزان مقاومت به اریترومایسین و کلیندامایسین به‌ترتیب حدود ۵۰/۷٪ و ۳۸/۴٪ گزارش شد [۱۹]. در مطالعه دیگر که در سال ۲۰۱۳ در کشور سوئیس انجام شد، نتایج نشان داد که میزان مقاومت به اریترومایسین ۳۰٪ و کلیندامایسین ۲۸٪ است [۲۰].

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد، پنی‌سیلین همچنان یک داروی مناسب برای درمان عفونت‌های استرپتوکوکوس آگالاکتیه است. مطالعات مختلف نیز نشان داد که ایزوله‌های

استرپتوکوکوس آگالاکتیه هیچ‌گونه مقاومتی به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام ندارند. اگرچه به‌علت مصرف زیاد پنی‌سیلین به‌عنوان داروی خط اول درمان و تغییر در پروتئین PBP2X موجود در دیواره سلولی استرپتوکوکوس آگالاکتیه میزان حساسیت این باکتری به پنی‌سیلین در طی سال‌های اخیر کاهش یافته است [۲۱].

کاهش حساسیت و آلرژی به پنی‌سیلین ما را مجبور به استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های جایگزین برای درمان عفونت‌های استرپتوکوکوس آگالاکتیه می‌کند. یکی از مهم‌ترین این آنتی‌بیوتیک‌ها، ماکرولئیدها هستند. مطالعه ما، نسبت به مطالعه‌ای که جنتی و همکارانش در شهر اردبیل انجام دادند، میزان مقاومت بالاتری به اریترومایسین (۲۸/۳۳٪) و کلیندامایسین (۱۵٪) را نشان می‌دهد [۲۲]. مقایسه مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که یک افزایش قابل توجهی از مقاومت به اریترومایسین و کلیندامایسین در باکتری GBS در کشور ما ایجاد شده است. که این مسئله از لحاظ درمان حائز اهمیت است. لذا با توجه به نتایج این مطالعه توصیه می‌شود، با توجه به حساسیت خوبی که استروپتوکوکوس آگالاکتیه به سفتازدیم دارد، در افراد آلرژیک به پنی‌سیلین استفاده گردد.

در مطالعه‌ی اخیری که در کشور کویت با هدف بررسی سروتایپینگ کپسولی GBS انجام شد، سروتیپ‌های V و III به‌ترتیب ۳۸/۵٪ و ۲۰/۹٪ مشاهده شد [۲۳]. در مطالعه ما بیش‌ترین سرتیپ کپسولی مربوط به تیپ III و Ia با فراوانی به‌ترتیب ۴۵٪ و ۱۸/۳۳٪ مشاهده شد. ارزیابی میزان شیوع GBS، میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی و به‌خصوص توزیع سروتایپ کپسولی این باکتری اطلاعات ارزشمندی جهت تعیین استراتژی‌های پیشگیری، اجرای برنامه تولید واکسن و کاهش میزان مرگ و میر در نوزادان است.

با توجه به اهمیت عفونت GBS در نوزادان تازه متولد شده و توصیه مرکز کنترل بیماری‌ها (CDC) برای غربالگری زنان باردار طی هفته‌های ۳۵ الی ۳۷ بارداری لذا ضرورت انجام این تست را در زنان باردار امری ضروریست.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک بخاطر حمایت مالی این مطالعه اعلام می‌دارند.

منابع

[1] Amundson NR, Flores AE, Hillier SL, Baker CJ, Ferrieri P. DNA macrorestriction analysis of nontypeable group B streptococcal isolates: clonal evolution of nontypeable and type V isolates. J Clin Microbiol 2005; 43: 572-576.

[2] Andrews JI, Diekema DJ, Hunter SK, Rhomberg PR, Pfaller MA, Jones RN, Doern GV. Group B streptococci causing neonatal bloodstream infection: antimicrobial susceptibility and serotyping results from SENTRY centers in the Western Hemisphere. Am J Obstet Gynecol 2000; 183: 859-862.

[3] Benson JA, Flores AE, Baker CJ, Hillier SL, Ferrieri P. Improved methods for typing nontypeable isolates of group B streptococci. Intern J Med Microbiol 2002; 292: 37-42.

[4] Verani JR, McGee L, Schrag SJ. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: revised guidelines from CDC, 2010: Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention; 2010.

[5] Dogan B, Schukken Y, Santisteban C, Boor KJ. Distribution of serotypes and antimicrobial resistance genes among Streptococcus agalactiae isolates from bovine and human hosts. J Clin Microbiol 2005; 43: 5899-5906.

[6] Rolland K, Marois C, Siquier V, Cattier B, Quentin R. Genetic features of Streptococcus agalactiae strains causing severe neonatal infections, as revealed by pulsed-field gel electrophoresis and hylB gene analysis. J Clin Microbiol 1999; 37: 1892-1898.

[7] Wehbeh W, Rojas-Diaz R, Li X, Mariano N, Grenner L, Segal-Maurer S, et al. Fluoroquinolone-resistant Streptococcus agalactiae: epidemiology and mechanism of resistance. AntimicrobAagents Chemother 2005; 49: 2495-2497.

[8] Seo YS, Srinivasan U, Oh KY, Shin JH, Chae JD, Kim MY, et al. Changing molecular epidemiology of group B streptococcus in Korea. J Korean Med Sci 2010; 25: 817-823.

[9] Gibbs RS, Schrag S, Schuchat A. Perinatal infections due to group B streptococci. Obstet Gynecol 2004; 104: 1062-1076.

[10] Lee B, Song Y, Kim M, Yang J, Shin J, Seo Y, et al. Epidemiology of group B streptococcus in Korean pregnant women. Epidemiol Infect 2010; 138: 292-298.

[11] Wayne P. Clinical and laboratory standards institute (CLSI) performance standards for antimicrobial disk diffusion susceptibility tests 19th. approved standard, CLSI document M100-S19 2009; 29.

[12] Jones N, Bohnsack JF, Takahashi S, Oliver KA, Chan M-S, Kunst F, et al. Multilocus sequence typing system for group B streptococcus. J Clin Microbiol 2003; 41: 2530-2536.

[13] Martinez G, Harel J, Gottschalk M. Specific detection by PCR of Streptococcus agalactiae in milk. Can J Vet Res 2001; 65: 68-72.

[14] Florindo C, Viegas S, Paulino A, Rodrigues E, Gomes JP, Borrego MJ. Molecular characterization and antimicrobial susceptibility profiles in Streptococcus agalactiae colonizing strains: association of erythromycin resistance with subtype III-1 genetic clone family. Clin Microbiol Infect 2010; 16: 1458-1463.

[15] Slotved H-C, Kong F, Lambertsen L, Sauer S, Gilbert GL. Serotype IX, a proposed new Streptococcus agalactiae serotype. J Clini Microbiol 2007; 45: 2929-2936.

[16] Nakamura PA, Schuab RB, Neves FP, Pereira CF, de Paula GR, Barros RR. Antimicrobial resistance profiles and genetic characterisation of macrolide resistant isolates of Streptococcus agalactiae. Mem Inst Oswaldo Cruz 2011; 106: 119-122.

[17] Zhao Z, Kong F, Zeng X, Gidding H, Morgan J, Gilbert G. Distribution of genotypes and antibiotic resistance genes among invasive Streptococcus agalactiae (group B streptococcus) isolates from Australasian patients belonging to different age groups. Clin Microbiol Infect 2008; 14: 260-267.

[18] Habibzadeh S, Arzanlou M, Jannati E, Asmar M, Azari M, Fardiazar Z. Maternal carriage of group B Streptococcus in Ardabil, prevalence and antimicrobial resistance. J Ardabil Univ Med Sci 2010; 10: 14-20. (Persian).

[19] Capraro GA, Rambin ED, Vanchiere JA, Bocchini JA, Matthews-Greer JM. High rates of inducible clindamycin resistance among prenatal group B streptococcal isolates in one northwest Louisiana academic medical center. J Clin Microbiol 2013; 51: 2469.

[20] Capanna F, Emonet SP, Cherkaoui A, Irion O, Schrenzel J, Martinez De Tejada Weber B. Antibiotic resistance patterns among group B Streptococcus isolates: implications for antibiotic prophylaxis for early-onset neonatal sepsis. Swiss Med weekly 2013; 143: w13778.

[21] Kimura K, Wachino JI, Kurokawa H, Matsui M, Suzuki S, Yamane K, et al. High cephalosporin resistance due to amino acid substitutions in PBP1A and PBP2X in a clinical isolate of group B Streptococcus. J Antimicrob Chemother 2013; 68: 1533-1536.

[22] Jannati E, Roshani M, Arzanlou M, Habibzadeh S, Rahimi G, Shapuri R. Capsular serotype and antibiotic resistance of group B streptococci isolated from pregnant women in Ardabil, Iran. Iranian J Microbiol 2012; 4: 130.

[23] Udo EE, Boswihi SS, Al-Sweih N. Genotypes and virulence genes in group B streptococcus isolated in the maternity hospital, Kuwait. Med Princ Pract 2013; 22: 453-457.

Antibiotic resistance profile and capsular serotyping of *Streptococcus agalactiae* isolated from pregnant women between 35 to 37 weeks of pregnancy

Hamid Bornasi (M.Sc)[1] , Ehsanollah Ghaznavi Rad (Ph.D)[1,2] , Nasim Fard-Mousavi (M.Sc)[1] , Soleiman Zand (B.Sc)[3], Hamid Abtahi (Ph.D)[*1,2]

1 – Dept. of Microbiology and Immunology, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

2 - Molecular Research Center, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

3 – Dept. of Nursing, Faculty of Nursing and Midwifery, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

(Received: 22 Feb 2015; Accepted: 26 Jul 2015)

Introduction*: Streptococcus agalactiae* (streptococcus group B (GBS)) is the natural inhabitants of the gastrointestinal and genitourinary tract and frequently is isolated from female reproductive tract. It is the most common cause of bacterial sepsis, meningitis, pneumonia and severe diseases in the newborn.

Materials and Methods*:* Sixty *Streptococcus agalactiae* isolates were collected from 500 vaginal smear samples from pregnant women in their 35 to 37 weeks of pregnancy. The antibiotic susceptibility testing was performed by using disk diffusion method on Mueller Hinton agar medium with 5% sheep blood followed by capsular serotyping and PCR for 16Sr RNA, for final approval.

Results*:* Antibiotic susceptibility test showed the lowest resistance was belong to Penicillin, ampicillin, vancomycin (0%), cefazolin (3/33%) and ceftazidime (5%).While the highest resistance was found for erythromycin (28/33%), clindamycin (15%) and tetracycline (96/66%) antibiotics. The frequency of capsular serotypes was as following: III=45%, Ia=18/33%, II=16/66%, V=13/33% and Ib=5%.

Conclusion*:* Based on the current study, high raise in GBS isolates resistance to erythromycin and clindamycin in pregnant women (within the 35-37th weeks of pregnancy) is alarming and Markazi province demands for an expanded screening program in the ground of their GBS preventative plan.

Keywords*:* Streptococcus Agalactiae, Drug resistance Microbial, Streptococcal Infections / Prevention

* Corresponding author. Tel: +98 86 32227109

abtahi@arakmu.ac.ir