بررسی و تجسس باکتریولوژیک و سرولوژیک استرپتوکوک گروه B (GBS) در مادران حامله، نوزادان و شیرخواران مبتلا به عفونت ناشی از آن

دکتر قرتاج خطایی، بخش عفونی، مرکز طبی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تهران
نادر شاهرخی

Bacteriologic and Serologic Diagnosis of Group B Streptococci in Pregnant Women, Neonates and Infants

ABSTRACT

Group B Streptococcus (GBS) is the most important pathogen identified in bacterial cultures in neonatal sepsis, sepecially with early - onset in developed countries (approximately 1-5 / 1000 deliveries).

Neonatal colonization with group B streptococcus results primarily from vertical transmission during the birth process. GBS carrier rate in pregnant women varies from 4.6 to 41 percent in different geographic populations. Contamination of neonates during passage through the birth canal is high (more than 50%).

Of the 191 pregnant women screened in this study, 28(14.7%) were found to be colonized with GBS, by the culture method. Direct CIE and SCA tests on SBM (Selective Broth Medium) containing mixed flora showed that only 11.5% and 18.3% had positive reaction.

A total of 530 patients were studied. GBS was isolated from the blood of 4 infants (5.5% , 4 vs 73 positive cultures). Of 181 cultures of CSF only one case was positive for GBS (8.3%) and had meningitis. In another part of experiment, two false positive reactions were found using serum specimen for detection of GBS antigen by CIE. Sensitivity of CIE and SCA both were 75%, specificity, 99.3% and 98.7%.

Conclusion: Although specimen collection and microbiologic methods are important factors in identification of women colonized with GBS, there is significant variation in the proportion of women colonization with GBS. This study suggests that GBS is a much less important cause of neonatal sepsis, but further studies are needed to explore these important issues.

Key Words: GBS; Neonatal Sepsis; Pregnancy; Vaginal Colonization

چکیده

استرپتوکوک گروه B از مهمترین عوامل بیماریزا در عفونتهای نوزادان، بویژه در هفته‌های اول تولد در کشورهای پیشرفته بشمار می‌رود و از هر هزار نوزاد زنده به دنیا آمده، ۵-۱ مورد گزارش می‌شود که با مرگ و میر بالا توأم است(۲،۱). علت اصلی آلودگی نوزاد، آلوده شدن هنگام عبور از کانال زایمانی است(۵،۴). میزان ناقلان در زنان باردار در جوامع مختلف بین ۴۱-۴/۶ درصد متغیر است و احتمال آلودگی نوزاد متولد شده از یک مادر ناقل ممکن است به بیش از ۵۰ درصد برسد (۲،۳،۴).

با توجه به اهمیت موضوع، کشت نمونه‌های واژن ۱۹۱ زن باردار مراجعه کننده به زایشگاههای مختلف وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تهران که جهت وضع حمل بستری بودند با استفاده از محیط انتخابی مایع، وجود ۲۸ نفر ناقل (۱۴/۷٪) را در این افراد نشان داد در حالیکه انجام تست CIE و SCA (کانترایمونوالکتروفورز و استافیلوکوکال کوآگلوتیناسیون) بر روی محیط کشت، به ترتیب در ۱۱/۵ و ۱۸/۳٪ موارد مثبت گردید. از ۵۳۰ کشت خون انجام شده برای نوزادان مشکوک به سپتی‌سمی، کلاً ۷۳ ارگانیسم جدا شد

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-11]

که سهم GBS در این مطالعه ۴ مورد (۵/۵٪) بود. از ۱۸۱ کشت مایع نخاع، تنها یک مورد (۸/۳٪) استرپتوکوک گروه B جدا شد.

از ۴۷۲ نمونه سرم بررسی شده با تست CIE، ۵ مورد مثبت بود که مقایسه آن با نتایج کشت خون نشان می‌دهد که از ۵ جواب، ۳ تا مثبت حقیقی و ۲ تا مثبت کاذب است. به این ترتیب استفاده از سرم برای تشخیص آنتی‌ژن بوسیله CIE، دارای ۷۵٪ حساسیت و ۹۹/۲٪ ویژگی می‌باشد.

نتیجه : گرچه در تعیین میزان کولونیزاسیون GBS در واژن زنان، نحوهٔ جمع‌آوری نمونه و روش‌های میکروبیولوژیک مهم است ولی کولونیزاسیون GBS در زنان بسیار متغیر می‌باشد. در این تحقیق، GBS اهمیت کمتری در سپتی‌سمی نوزادان دارد معهذا مطالعات بیشتری مورد نیاز است.

واژه‌های کلیدی: GBS؛ ***سپسیس نوزادی؛ حاملگی***

مقدمه

طی دهه ۱۹۷۰ در نواحی مختلف جغرافیایی جهان سپتی‌سمی و مننژیت ناشی از استرپتوکوک گروه B (GBS) افزایش قابل ملاحظه یافت، بطوری که بر عفونت E-Coli برتری یافت. با توجه به کلونیزاسیون این باکتری در رکتوم و واژن، بررسی میزان حاملین و نیز شیوع عفونت در هفته اول تولد با اهمیت بنظر می‌رسد، زیرا مرگ و میر آن در نقاط مختلف دنیا بین ۳۰-۱۱٪ بوده و از طرفی احتمال بروز عوارض عصبی پس از ابتلاء به مننژیت و بهبودی نیز ۵۰-۲۵٪ است(۱۳،۷،۵،۴). گرچه GBS مهمترین پاتوژن در ایجاد سپتی‌سمی نوزادان در کشورهای پیشرفته می‌باشد، ولی در مطالعات انجام شده در کشورهای در حال توسعه هنوز اجرام گرم‌منفی اهمیت بیشتری نسبت به GBS در ایجاد عفونت خونی نوزادان دارند(۸،۲). این موضوع موجب گردید که در مورد GBS ما نیز مطالعه خود را آغاز نماییم.

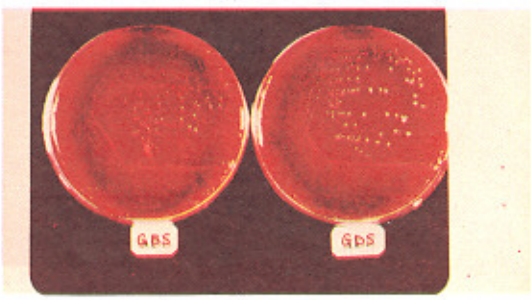
روش و مواد

با تهیه پروتکل (برنامه) تحقیق بصورت پرسشنامه دو قسمتی شامل مادر و نوزاد، نمونه‌ها از بیمارستانها و زایشگاههای وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تهران جمع‌آوری شد که شامل ۱۹۱ سوآپ واژن، ۵۳۰ نمونه کشت خون از نوزادان و شیرخواران زیر ۳ ماه مشکوک به سپتی‌سمی و مننژیت (۱۳۰ نمونه آنها از نوزادان مادرانی است که کشت واژن بعمل آمده است)، ۱۸۱ نمونه کشت مایع نخاع از نوزادان، ۴۷۲ نمونه سرم نوزادان مشکوک به سپتی‌سمی، ۵۱ نمونه مایع نخاع نوزادان مشکوک به سپتی‌سمی، ۲۵۸ نمونه ادرار نوزادان مشکوک به سپتی‌سمی و مننژیت و نیز ۱۷۰ نمونه کشت از کانال گوش خارجی، محل ناف و کشت حلق نوزادان متولد شده از مادران مورد مطالعه (دارای کشت واژن) می‌باشد.

نوع مطالعه توصیفی تحلیلی می‌باشد. زنان مورد مطالعه زنانی بوده‌اند که جهت زایمان مراجعه کردند و بستری شدند.

نمونه‌ها قبل از عمل زایمان و بدون استفاده از مواد آنتی‌سپتیک موضعی از قسمت ابتدایی واژن و از چند نقطه توسط پزشک زن یا ماما گرفته شد و بلافاصله به محیط مایع انتخابی (SBM) انتقال داده شد. نمونه‌های کشت خون بطور استریل از نوزادان به مقدار ۲-۱ میلی‌لیتر در محیط کشت خون ویژه نوزادان تهیه گردید. کشت مایعات دیگر بدن نوزادان نیز با رعایت اصول بهداشتی لازم در محیط آگار خوندار حاوی ۵٪ خون دفیبرینه گوسفند انجام گردید(شکل ۱ و ۲). روش‌های سرولوژیک تحقیق شامل آزمون‌های کانترایمونوالکتروفورزیس (CIE)، تست میکروپرسی پیتاسیون (متد لانسفیلد) و تست‌های آگلوتیناسیون (لاتکس آگلوتیناسیون LA) و تست کوآگلوتیناسیون با پروتئین A موجود در سطح میکروب استافیلوکوک اروئوس در روی اسلاید یا (SCA) می‌باشد(۱۵،۱۴،۱۱،۱۰،۹،۶).

شکل ۱ـ کلنی‌های استرپتوکوک گروه B و D روی آگار خوندار تهیه شده با خون گوسفند



[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-11]

نتایج

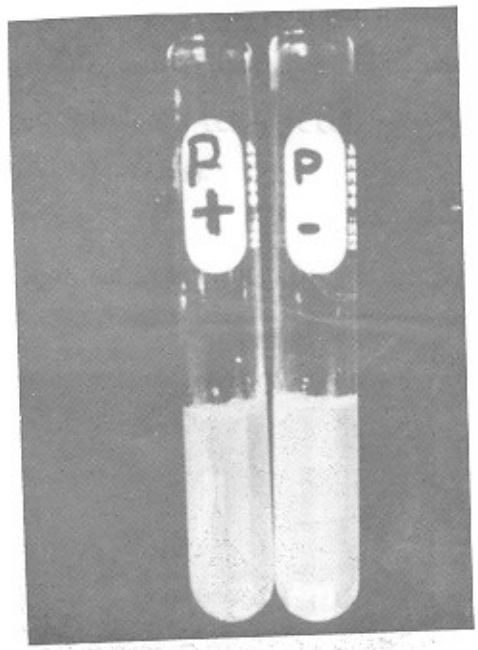
از ۱۹۱ نمونه کشت واژن زنان باردار قبل از زایمان با استفاده از محیط انتخابی مایع (SBM)، تعداد ۲۸ مورد GBS جدا شد که نشان‌دهنده وجود ۱۴/۷٪ ناقل در این جمعیت بود (جدول ۱).

جدول ۱ ـ کوکسی‌های گرم‌مثبت جدا شده از ۱۹۱ کشت واژن زنان باردار با استفاده از محیط کشت مایع انتخابی Selective Broth Medium (SBM)

ارگانیسم	تعداد	درصد
S.aur. (استافیلوکوک طلایی)	۱۰۲	۵۳/۴
GDS (D استرپتوکوک گروه)	۴۳	۲۲/۵
GBS (B استرپتوکوک گروه)	۲۸	۱۴/۷
Others	۱۸	۹/۴

تست‌های سرولوژیک انجام شده بر روی محیط SBM حاوی فلور مخلوط ۲۴ ساعته مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج آن در جدولهای ۲ و ۳ آمده است. در نمونه‌های تهیه شده از کانال گوش، حلق و محل ناف، کشت مثبتی از نظر GBS بدست نیامد.

شکل ۲ـ تولید پیگمان نارنجی توسط GBS در محیط کلمبیا آگار (+P)، در لوله -P یک استرپتوکوک گروه D کشت داده شده است



جدول ۲ـ مقایسه روش‌های سرولوژیک (SCA, CIE)* با کشت در تشخیص GBS در کشت واژن

روش شناسایی	تعداد نمونه‌ها	Group B Streptococci تعداد	Group B Streptococci درصد
کشت	۱۹۱	۲۸	۱۴/۷
کانترایمنوالکتروفورزیس	۱۹۱	۲۲	۱۱/۵
کواگلوتیناسیون	۱۹۱	۳۵	۱۸/۳

* تست‌های CIE و SCA مستقیماً بر روی کشت مایع انتخابی (SBM) ۲۴ ساعته انجام شد.

از تقریباً ۵۳۰ نمونه کشت خون نوزادان مشکوک به سپتی‌سمی و منتژیت، تعداد ۷۳ مورد کشت مثبت بدست آمد که در این میان گروه B استرپتوکوک ۴ مورد بود (جدول ۴). از ۴ مورد، ۲ مورد یعنی ۷/۴٪، عفونتهای زودرس و ۲ مورد دیگر یعنی ۴/۳٪، در گروه

جدول ۳ـ مقایسه حساسیت و ویژگی تستهای CIE و SCA در شناسایی آنتی‌ژن GBS در کشت حاوی فلور مخلوط

کشت	CIE		SCA	
	مثبت	منفی	مثبت	منفی
مثبت	۱۹	۹	۲۲	۶
منفی	۳	۱۶۰	۱۳	۱۵۰
حساسیت	٪۶۸	٪۷۸		
ویژگی	٪۹۸	٪۹۲		

عفونتهای دیررس قرار داشتند. از ۱۸۱ نمونه مایع نخاع نوزادان مشکوک به منتژیت، ۱۲ کشت مثبت بدست آمد که ارگانیسم‌های جدا شده در نمودار ۱ نشان داده شده‌اند. از ۱۲ مورد تنها یک مورد (۸/۳٪) استرپتوکوک گروه B بدست آمد. به منظور تشخیص سریع آنتی‌ژن GBS در مایعات بدن، تست‌های سرولوژیک CIE و SCA بر روی نمونه سرم، ادرار غلیظ شده، مایع نخاع و نمونه سوپرناتانت کشت خون نوزادان مشکوک به عفونت انجام گرفت که نتایج در نمودار ۲ و ۳ و جدولهای ۵، ۶ و ۷ آمده است.

بحث

برخلاف رحم و تخمدان که بطور طبیعی عاری از میکروارگانیسم‌ها هستند، واژن اکوسیستمی است که دارای فلورمیکروبی خاصی می‌باشد(۴،۳،۲). این فلور میکروبی یک

جدول ٤ـ باکتریهای مهم جدا شده از کشت خون ۵۳۰ نوزاد (کمتر از ۳ ماه) مشکوک به سپتی‌سمی و منتژیت

ارگانیسم ایزوله شده	تعداد (٪) (۷ روزه <)	تعداد (٪) (۷ روزه >)
Escherichia coli	۷ (۲۶/۰)	۹ (۱۹/۶)
Staphylococcus aureus	۵ (۱۸/۵)	۱۳ (۲۸/۳۹)
Staphylococcus epidermidis	۳ (۱۱/۱)	۴ (۸/۷)
Streptococcus agalactiae	۲ (۷/۴)	۲ (۴/۳)
Klebsiella Sp.	۲ (۷/۴)	۱۱ (۲۳/۹)
Others	۸ (۲۹/۶)	۷ (۱۵/۴)
No growth	۱۸۰ (۸۷/۰)	۲۷۶ (۸۵/۷)
Culture pos./Total	۲۷/۲۰۷ (۱۳)	۴۶/۳۲۲ (۱۴/۳)

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-11]

سیستم دینامیک است و اجزای آن کاملاً به هم مرتبط بوده و تحت تأثیر چندین فاکتور مانند میزان محتویات گلیکوژنی سلول‌های اپی‌تلیال، گلوکز، pH، شرایط هورمونی، زایمان، جراحی، استفاده از کنتراسپتیو، مصرف آنتی‌بیوتیک، تروما، میزان فعالیت جنسی و غیره قرار دارد. در شرایط معمولی، لاکتوباسیل‌ها با تولید پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، اسید لاکتیک و کاهش pH، تولید ترکیباتی مانند باکتریوسین بنام لاکتوسین و اشغال جایگاه، ممانعت از اتصال پاتوژن‌ها در واژن نموده و رشد سریع آنها راکنترل می‌نمایند و حتی از بروز عفونت دستگاه ادراری بوسیله E-Coli و آنتروکوک‌ها جلوگیری می‌کنند(۱،۴،۵،۸).

در دوران بارداری، تغییر pH واژن، افزایش میزان گلوکز و پرخونی واژن در اثر افزایش ترشح استروژن‌ها شاید عاملی برای رشد GBS و سایر باکتریهای هوازی اختیاری باشد. میزان بدست آمده برای کلونیزاسیون باکتری در واژن، بنابراین تحت تأثیر عوامل متعددی باید باشد، که مهمترین آنها به نظر می‌رسد که تعداد و نوع جمعیت مورد مطالعه، نوع محیط کشت انتخابی، محل و دفعات نمونه‌برداری و نیز زمان نمونه‌برداری ممکن است باشد. به همین جهت در گزارشهای مختلف از ۴۱/۲-۴/۵٪ متغیر است و در این تحقیق ۱۴/۷٪ ناقل در جامعه مورد مطالعه وجود دارد(۲،۳،۵،۱۲).

از آنجایی که علت اصلی آلودگی نوزادان بویژه در عفونتهای زودرس، عبور از کانال زایمانی آلوده به GBS می‌باشد، در نوزادان به جستجوی عفونتهای GBS پرداخته شد(۳،۵،۱۵). بعلاوه می‌دانیم که کموپروفیلاکسی در مادران ناقل سبب به حداقل رساندن آلودگی نوزادان می‌شود و لازمه انجام یک چنین کموپروفیلاکسی، تشخیص ناقل بودن مادر قبل از زایمان است.

جدول ۵ـ مقایسه ویژگی استفاده از سرم و ادرار در شناسایی آنتی‌ژن GBS با استفاده از نمونه‌های نوزادان غیرعفونی (گروه کنترل)

نمونه آزمایش شده	تعداد نمونه	CIE (مثبت)	SCA (مثبت)	ویژگی
سرم	۱۳۰	۰	۰	٪۱۰۰
ادرار				
غلیظ شده	۱۷۰	۱	۳	٪۹۸/۴
غلیظ نشده	۱۷۰	۳	۴	٪۹۷/۲

در مطالعات Fenton حساسیت CIE درکشت مخلوط پس از ۲۰ ساعت انکوباسیون ۵۴٪ بوده و در این مطالعه با اختلاف ۴ ساعت یعنی پس از ۲۴ ساعت ۶۸٪ است. در مورد تست SCA جوابهای مثبت کاذب به مراتب بیشتر است (۱۳ مورد در ازای ۳ مورد). غالباً گفته می‌شود که مثبت شدن تست CIE و SCA بعد از ۱۰-۶ ساعت انکوباسیون کشت واژن، نشان دهنده کلونیزاسیون شدید فرد است(۷،۸،۹،۱۳).

جدول ٦ـ مقایسه CIE و SCA در شناسایی آنتی‌ژن GBS در ادرار غلیظ شده نوزادان مشکوک به سپتی‌سمی یا مننژیت

کشت خون از نظر وجود GBS	تعداد	CIE		SCA	
		مثبت	منفی	مثبت	منفی
مثبت	۴	۳	۱	۴	۴
منفی	۲۸۱	۳	۲۷۸	۴	۲۷۷
حساسیت		٪۷۵		٪۱۰۰	
ویژگی		٪۹۸/۹		٪۹۸/۲	

در مورد نتایج کشت خون در این تحقیق، GBS رتبه پنجم را در میان ارگانیسم‌های جدا شده دارد که نسبت به گزارشهای کشورهای اروپائی و آمریکائی کمتر است (۵/۵٪ در برابر ۳۰٪ از کشورهای غربی). علت آن می‌تواند به دلایل گوناگون باشد، اولاً نتایج در نواحی جغرافیایی مختلف و جوامع گوناگون بسیار متغیر است (در اسرائیل ۶-۵/۵٪)، ثانیاً شیوع عفونت GBS بیشتر در نوزادان زیر ۵ روز است، در صورتی که در این مطالعه، بیشتر نوزادان سنی بالای ۵ روز داشتند.

جدول ۷ـ مقایسه CIE و SCA در شناسایی آنتی‌ژن GBS در نمونه سرم نوزادان مشکوک به سپتی‌سمی یا مننژیت

کشت خون از نظر وجود GBS	تعداد	CIE		SCA	
		مثبت	منفی	مثبت	منفی
مثبت	۴	۳	۱	۳	۱
منفی	۴۶۸	۲	۴۶۶	۶	۴۶۲
حساسیت		٪۷۵		٪۷۵	
ویژگی		٪۹۹/۳		٪۹۸/۷	

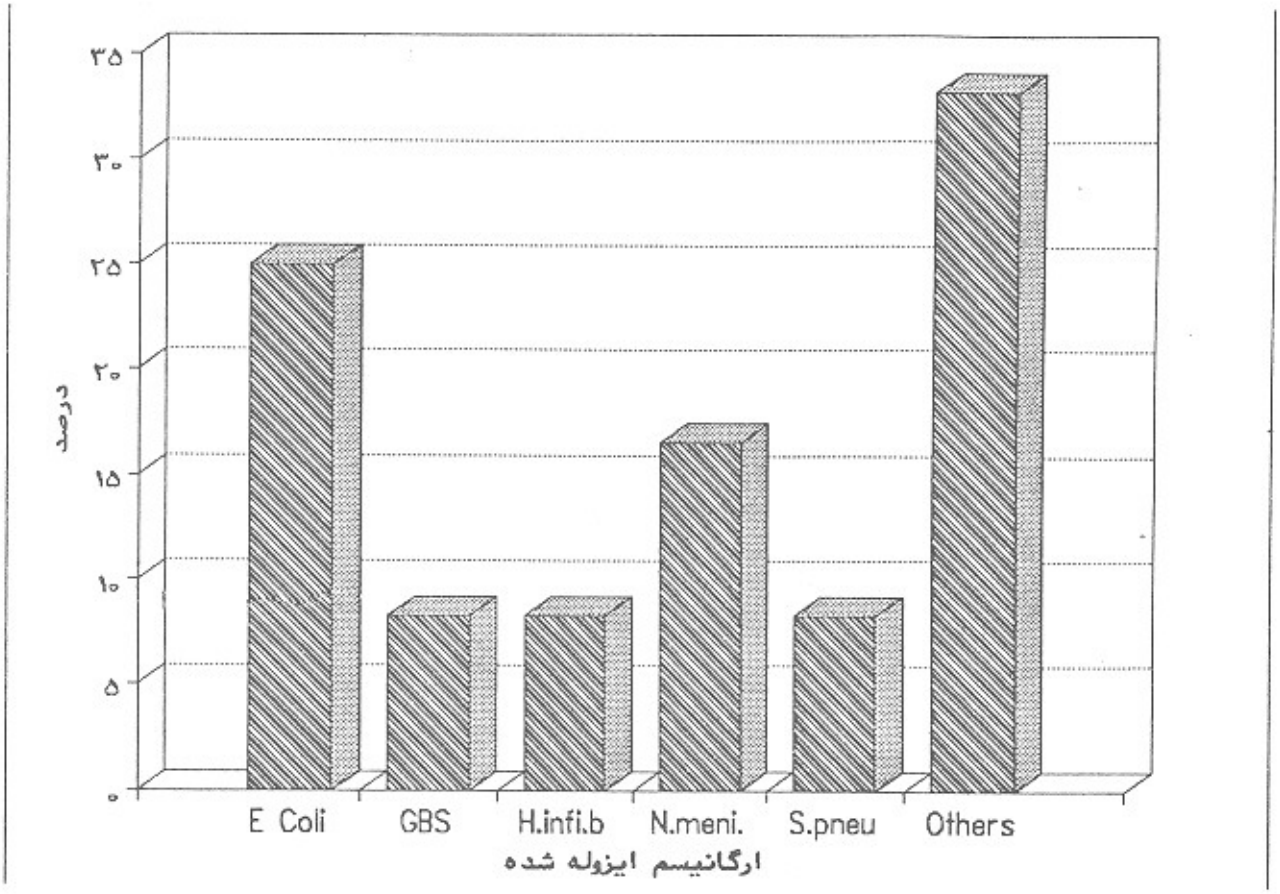
دلیل دیگر ممکن است اشکالات عملی هنگام کشت خون بویژه در نوزادان، مصرف آنتی‌بیوتیک قبل از کشت خون، نامناسب بودن زمان نمونه‌گیری، کم‌توجهی آزمایشگاه به این باکتری و نیز نبودن امکانات لازم جهت شناسایی دقیق آن و امکان اشتباه آن با استرپتوکوک گروه D (آنتروکوک‌ها)، استافیلوکوک اپیدرمیدیس و سایر استرپتوکوک‌ها مانند GAS باشد.

نتیجه‌گیری

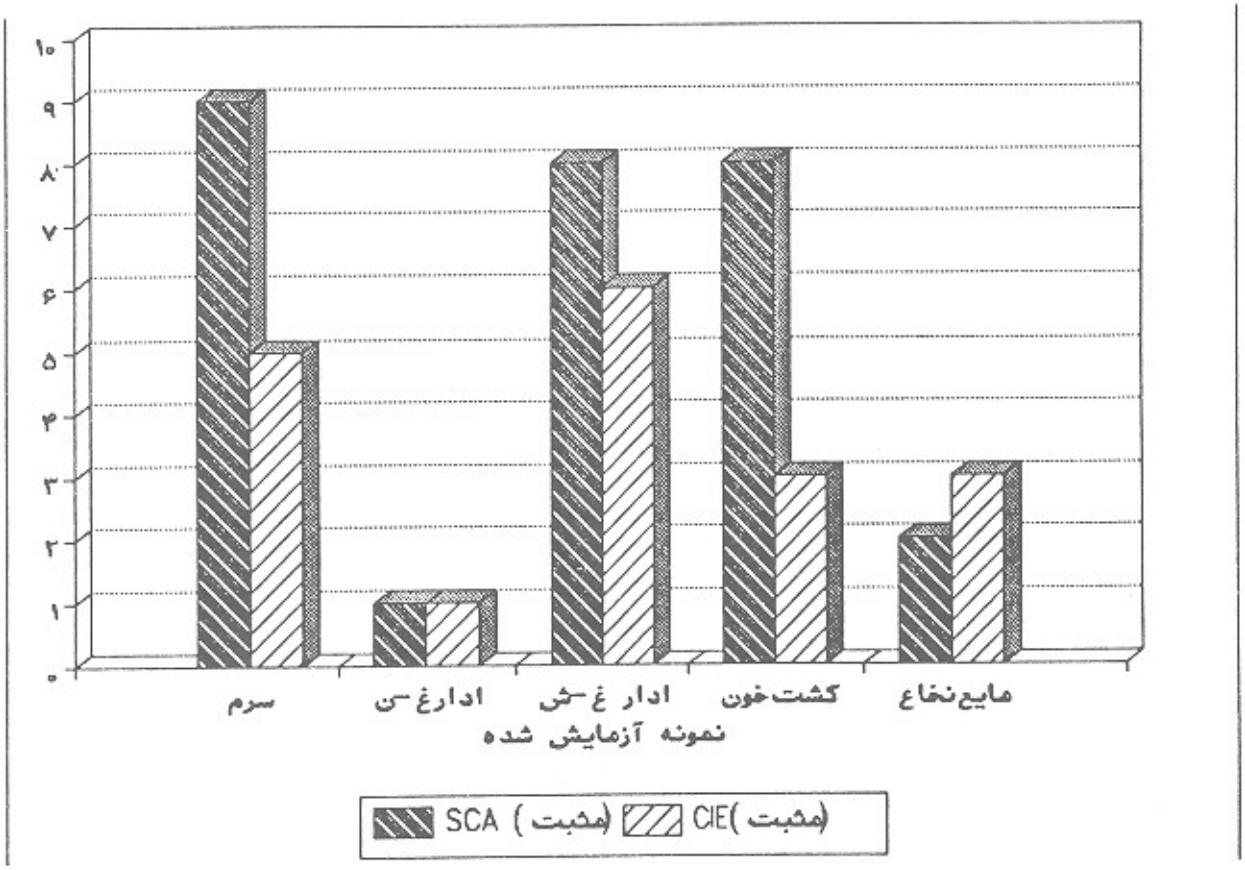
واژن و رکتوم محل اصلی کلونیزاسیون GBS می‌باشد. میزان کلونیزاسیون بر حسب جوامع مختلف متغیر است، در نتیجه عفونت نوزادان و شیرخواران کوچک با این باکتری بر حسب مناطق جغرافیایی مختلف و نیز نحوه نمونه‌گیری و آزمایشگاه انجام دهنده آزمایش متفاوت است(۱۲،۱۴،۱۵).

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-11]

نمودار ۱ـ باکتریهای ایزوله شده از کشت نخاع ۱۸۱ نوزاد (کمتر از سه ماه) مشکوک به مننژیت

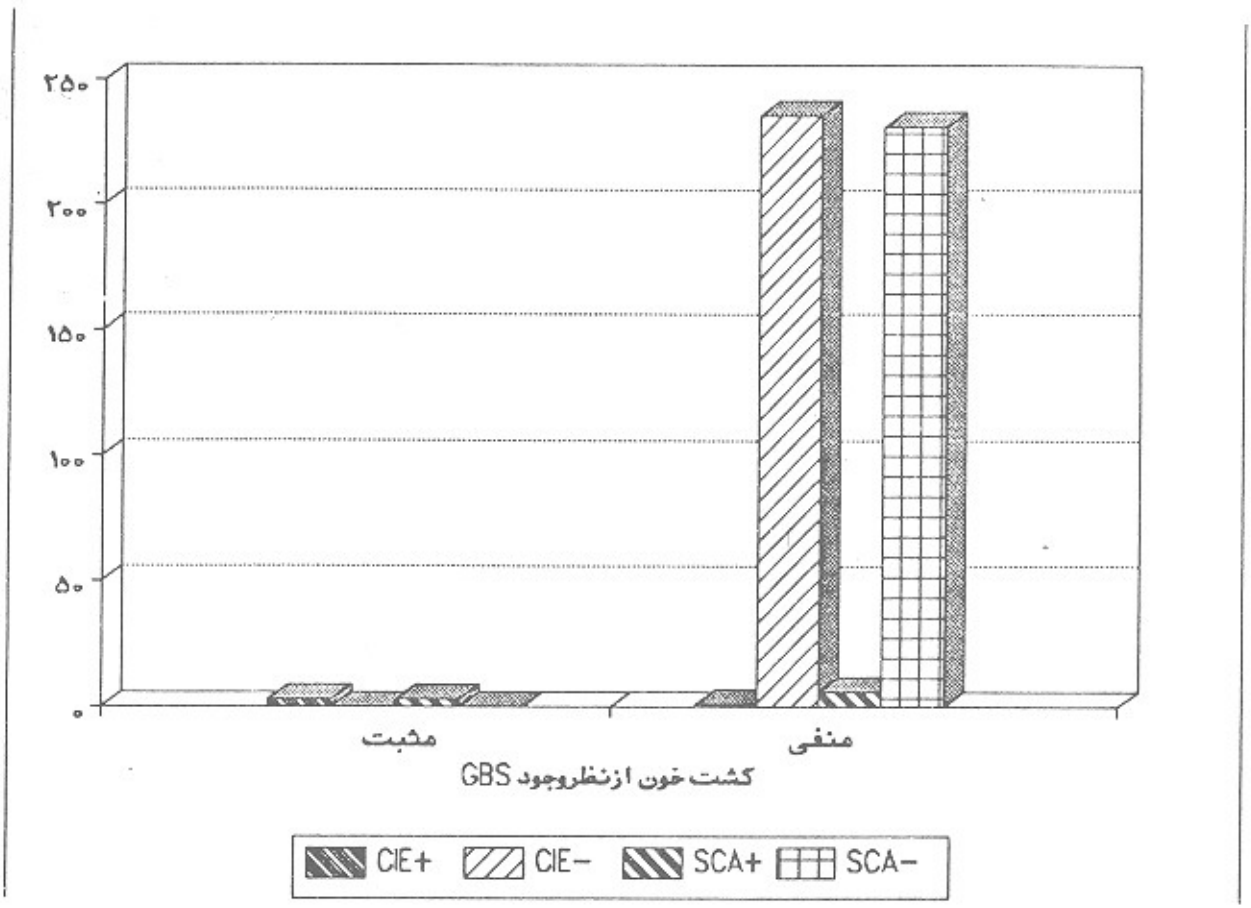


نمودار ۲ـ نتایج جستجوی آنتی‌ژن مربوط به GBS در مایعات بدن نوزادان مشکوک به عفونت



[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-11]

نمودار ۳ـ مقایسه CIE و SCA در تشخیص آنتی‌ژن GBS در سوپرناتان (مایع روئی) کشت خون ۲۴ ساعته نوزادان مشکوک به عفونت



سوپرناتنت کشت خون یک بیمار مبتلا به سپتی‌سمی GBS در دسترس نبود

پیشنهادات

۱ـ بایستی به فکر GBS بود و جهت تعیین ناقلان نمونه از چند نقطه واژن و نیز رکتوم در اواخر دوران بارداری (بویژه هفته ۳۷-۳۵ حاملگی) یا زمان زایمان تهیه نمود(۸،۱۳،۱۵).

۲ـ متخصصان زنان و اطفال در صورت مشکوک بودن به GBS به آزمایشگاه نظر خود را اعلام دارند تا در تجسس آن دقت شود.

منابع

1- Anthoy B.F. et al. 1977. The emergence of GBS in infections of the neworn infant. Ann. Rev. Med. 28: 355-369.

2- Baker C.J. et al. 1987. Vaginal colonization with group B streptococcus. J. Infect. Dis. 135: 258-270.

3- Bardi M.S. et al. 1979. "Rectal colonization with GBS; relation to vaginal colonization of pregnant women. J. Infect. Dis. 135: 308-12.

4- Christensen K. et al. 1987. "A screening test (GBS Test) for urogenital carrier of GBS " Am. J. Obstet. Gynecol. 157: 341-342.

5- Davis J.P. et al. 1979. "Vertical transmission of GBS; relation to intrauterine fetal monitoring. J AMA 242: 42-44.

6- Doskel S.D. 1980. "Bacterial antigen detection in body fluids, method for rapid Concentration and reduction of nonspecific reactions: J.Clin. Microbiol 17: 380-384.

7- Edwards M.S. et al. 1989. "Longterm sequeles of group B streptococcal meningitis." J. Pediatr. 106: 717-22.

8- Ferrieri P. 1990. "Neonatal susceptibility and immunity to major bacterial pathogens. Rev. Infect. Dis. 12. Supp 4:395-401.

9- Henrichen J. 1989. Nomenclature of antigens of GBS, Int. J. Syst.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-11]

Bacterial. 34: 500.

10- Kasper D.L. et al. 1994. "Electron microscopic definition of GBS. "J.Infect. Dis 139: 147-151.

11- Kumar A. 1980. "Latex agglutination test CIE for detection of GBS antigen. J.Pediatr. 97: 328-9.

12- Opal SM, Noya FJD, 1994; Group Bsterptococal sepsis in adult and infants, contrast and comparison" Arch Intern. ed. 148: 641-45.

13- Pass MA. 1989. "Prospective studies of GBS infections in infants." J. Pediatr. 95: 437-43.

14- Romero, R. 1991. "Identification of GBS by immunofluorescence staining. Applied. Microbiol. 28: 199-204.

15- Report of the committee on Infectious Diseases, Group B Streptococcal infections, Red Book 1997, 24 th Edi. AAP: 494-501.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-11]