Novel identification of ***Group B Streptococcus*** and ***Enterobacter sakazakii*** in infant suspected to septicemia

Dr.Farzan Modarresi

Department of Microbiology, School of Medicine, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran

Arash Hasannezhad

student of medical laboratory science, Student Research Committee, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran

fppt.com

Introduction

- **استرپتوکوک گروه B (GBS)** به عنوان یک پاتوژن مهم نوزادان و زنان باردار معرفی شده و در سال ۱۹۷۰ به عنوان عامل عمده عفونت های نوزادی معرفی شد.کلونیزاسیون مجاری تناسلی در ۱۰تا ٪۳۰ زنان باردار رخ می دهد و معمولا **بدون علامت** است اما می تواند به عفونت مجاری ادراری، سپتی سمی، اندومتریت و سقط جنین عفونی منجر شود. عفونت نوزادان به طور قابل توجهی با کلونیزاسیون واژینال مادر با GBS در طول دوره بارداری مرتبط است. اکتساب باکتری توسط نوزاد در۱۵تا ٪۵۰ نوزادانی که از مادران آلوده متولد می شوند رخ می دهد.

fppt.com

- این باکتری قادر است عفونت هایی نظیر سپتی سمی، مننژیت، سلولیت، پنومونی، آدنیت و اوتیت را در نوزادان ایجاد کند که از این میان سپسیس و مننژیت اهمیت بیشتری داشته و به رغم درمان آنتی بیوتیکی مرگ و میر بالایی دارند.
- مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داد که کلونیزاسیون GBS در میان زنان ایرانی از ۲۶.۷٪ میباشد.
- شیوع عفونت باکتریایی با GBS در میان گروه های قومی ومکان های جغرافیایی به طور گسترد های متفاوت است لذا پیشنهاد شده است به طور جداگانه در هر کشور بررسی شود.

fppt.com

- انتروباکتر ساکازاکی باسیلی گرم منفی و متعلق به خانواده انتروباکتریاسه است که به طور وسیع در طبیعت و مجاری روده ای انسان و حیوان یافت میشود. این باکتری بالقوه خطرناک است که از راه شیر خشک مصرفی آلوده به نوزادان منتقل می گردد وسبب بیماری های مختلف از جمله مننژیت، آبسه های مغزی، انتروکولیت نکروزان، انسفالیت، مننگوآنسفالیت نکروز دهنده، باکتریمی و سپسیس در نوزادان به ویژه نوزادان پیش از موعد متولد شده، نوزادان با سیستم ایمنی سرکوب شده و نیز نوزادانی که دارای وزن کم هنگام تولد میگردد.

- اگر چه شواهد اپیدمیولوژیکی در ارتباط با دوز عفونت زای این باکتری وجود ندارد اما شمار تقریبی را۱۰۰۰ ارگانیسم میدانند که بسیار پایین بوده و همانند دوز عفونی باکتری های پاتوژنی همچون لیستریا مونوسایتوژنز، اشیرشیاکلای O157، و نایسریا مننژیتیدیس می باشد.

fppt.com

- یکی از بزرگترین معضلات این باکتری ها ایجاد سپتی سمی در نوزادان است که خود دارای معضلاتی همچون تب، افزایش تپش قلب، افزایش میزان تنفس و در بسیاری از موارد مرگ می شود.
- در بسیاری از موارد به دلیل عدم نمونه گیری مناسب و به موقع و نبود امکانات پیشرفته تشخیصی در آزمایشگاه های بالینی و نیز از نظر دور ماندن عفونت ناشی از انتروباکتر ساکازاکی توسط پزشکان، اهمیت بیماری های ناشی از این ارگانیسم ها نادیده گرفته می شود.
- همچنین در کشور ما، آزمایشگاه های بالینی بیمارستان ها به دلیل کمبود امکانات، کشت خون صرفا از طریق کشت سنتی انجام میشود شناسایی و جداسازی این ارگانیسم شدیدا کاهش می یابد.

fppt.com

method

- برای انجام این مطالعه از خون نوزادانی۲۰۰ زیر ۱۲ ماه مشکوک به سپتیسمی که برای آزمایش blood culture به آزمایشگاه مراجعه کرده استفاده شده است. سپس سرم خون افراد با استفاده سانترفیوژ دور ۳۰۰۰ جدا کردیم. سپس با استفاده از لوپ استریل سرم را رو محیط کشت MacConkey Agar کشت دادیم و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه کردیم. سپس با استفاده از کیت Fermehtas محتوای ژنوم باکتری های رشد کرده روی محیط کشت با استفاده از پروتکل کیت استخراج شد. به عنوان کنترل مثبت DNA، ژنوم خالص شده از استرپتوکوک گروهB و انترو باکترساکازاکی تهیه شده از آزمایشگاه رفرنس استفاده شد.

fppt.com

- در این مطالعه یک قطعه اختصاصی از ژن cfb استرپتوکوک گروه B به اندازه bp ۱۵۳ تکثیر شد که توالی پرایمرهای اختصاصی شامل sag059 و sag190 بودند و یک قطعه اختصاصی از ژن انتروباکتر ساکازاکی با پرایمرهای اختصاصی Esak2 و Esak3 که جهت تکثیر DNA ژنومی به عنوان الگو انتخاب شدند.

Sag59: 5-TTTCACC AGCTGTATTA GAATA-3`

Sag190: 5-GTTCCCTGAACATTATCTTTGAT-3`

Esak 2: 5´-CCC GCA TCT CTG CAG GAT TCT C-3’

Esak 3: 5´-CTA ATA CCG CAT AAC GTC TAC G-3´

fppt.com

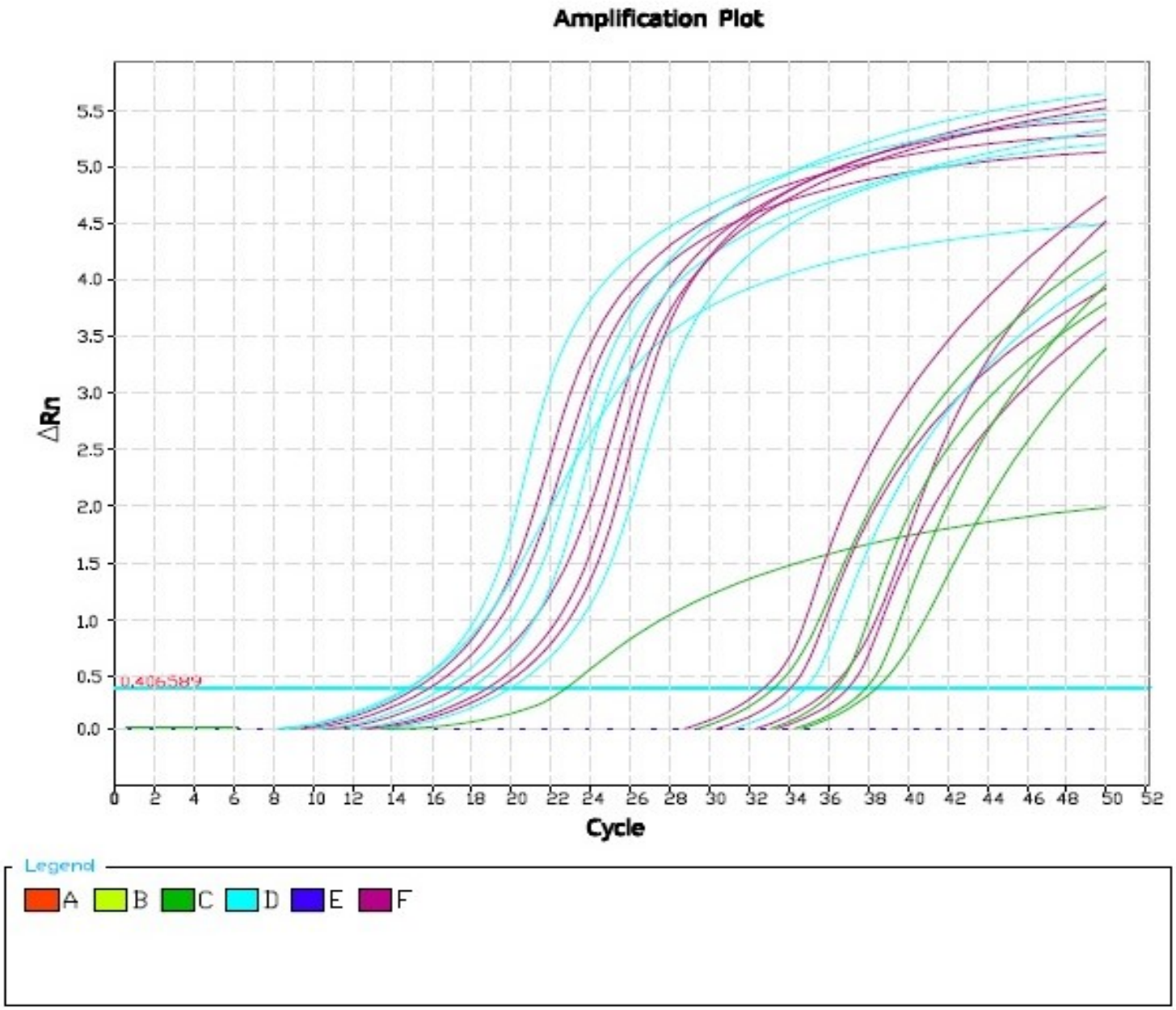
- واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر متشکل از ۷۵/ میکرولیتر از هر پرایمر ، ۵/ میکرولیتر dNTPs ، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR و ۱ میکرولیتر $MgCl_2$ و ۱۸/۳ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه، ۱ میکرولیتر نمونه DNA و نهایت ۲/ میکرولیتر آنزیم Taq DNA پلیمراز (شرکت Fermentas) در طی ۳۵ سیکل با استفاده از دستگاه ترموسایکلر انجام گردید. به عنوان کنتربل منفی در یک میکروتیوب به جای اضافه نمودن DNA، آب مقطر اضافه گردید. هر چرخه واکنش PCR شامل مرحله ی دناچوریشن در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲ دقیقه، آنلینگ در دمای ۵۹ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه و تکثیر در دمای ۷۲ درجه ی سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه انجام گشت و یک مرحله ی اکستنشن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه نیز اعمال گردید.

fppt.com

Result & Discussion

- در این مطالعه طبق نتایج به دست آمده از Multiplex-realtime PCR انجام شده، مشاهده شد که تعداد ۱۶ نوزاد (۸٪) مبتلا به عفونت Enterobacter sakazakiiتعداد ۱۰ نوزاد (۵٪) مبتلا به عفونت Group B Streptococcus هستند.

fppt.com


Amplification Plot
ΔRn
5.5
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.406589
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40 42 44 46 48 50 52
Cycle
Legend
A B C D E F

fppt.com

- همانطور که ذکر شد Enterobacter Sakazakii و GBS دو نوع قابل توجه از پاتوژن های فرصت طلب برای عفونت های نوزادان هستند و همچنین می توانند باعث ایجاد بیماری های مختلف در نوزادان و گاهی اوقات مرگ شوند.

بنابراین، مطالعه در مورد شیوع Enterobacter Sakazakii و GBS در جلوگیری از همه گیر شدن بیماری ها و کاهش مرگ و میر نوزادان اهمیت دارد.

- همانطور که در بالا گفته شد، Enterobacter Sakazakii عفونت موجود در شیر خشک های آلوده است که شناسایی آن می تواند یک عامل کمک کننده به سیستم غذا و دارو کشور باشد.

fppt.com

- در مطالعه ما، با استفاده از Multiplex-realtime PCR، به طور همزمان دو پاتوژن های مهم Enterobacter Sakazakii و GBS در نوزادان مشکوک به سپتی سمی در شیراز و جهرم مورد بررسی قرار گرفت.

- **نتایج نشان داد که این باکتری هنوز میتواند به طور بالقوه عامل اپیدمی در استان فارس باشد.**

fppt.com

Keywords

- استرپتوکوکوس گروه B
- انتروباکتر ساکازاکی
- نوزادان
- سپتی سمی
- Multiplex-real time PCR

fppt.com

با تشکر از توجه شما

fppt.com