

Son Trimester Gebelerde Vajinal Grup B Streptokok Kolonizasyonunun Saptanmasında Kültür Yöntemi ile Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yönteminin Etkinliklerinin Değerlendirilmesi

Samer Al-Wedyan (*), Ramazan Gümral (*), Ümit Göktolga (**), Fatih Şahiner (*), Orhan Bedir (*), Aylin Üsküdar Güçlü (*), Abdullah Kılıç (*), Ahmet Celal Başustaoglu (*)

ÖZET

Bu çalışmada konvansiyonel kültür yöntemi ile Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) temelli moleküler yöntemin son trimester gebelerde vajinal Grup B streptokok (*Streptococcus agalactiae*) kolonizasyonunu saptama etkinliklerini değerlendirmek amaçlanmıştır. Steril svablar kullanılarak gönüllü gebe kadınların her birinden iki ayrı vajinal sürüntü örneği alındı. Örneklerden biri doğrudan %5 koyun kanlı agara ekilerek kültüre edilirken diğer örnek Gerçek Zamanlı PZR yöntemiyle test edildi. Toplam 80 örneğin dâhil edildiği çalışmada 6 örnekte her iki yöntem ile bir örnekte sadece kültür yöntemi ve 9 örnekte sadece PZR ile olmak üzere toplam 16 (%20) örnekte pozitiflik saptanırken 64 örnek (%80) yöntemlerin her ikisi ile de negatif olarak değerlendirildi. Bu çalışmada, kullanılan iki yöntem arasında Mc Nemar testi ile istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0.021$) bulundu.

Anahtar Kelimeler: Grup B Streptokok, gebelik, vajinal kolonizasyon, gerçek zamanlı PZR.

SUMMARY

Evaluation of Culture Method and Real-Time PCR for Detection of Vaginal Group B Streptococcus Colonization in Pregnant at the Last Trimester

In this study, it is aimed to evaluate effectiveness of the conventional culture method and PCR based molecular method in detecting the vaginal Group B Streptococcus (*Streptococcus agalactiae*) colonization during the third trimester of pregnancy. Two vaginal samples were obtained simultaneously from each consenting pregnant women by using sterile swabs. One of the swabs was directly cultured by means of plating onto 5% sheep blood agar, while the other one was used for a real-time PCR assay. A total of 80 samples were collected in which 64 (80%) samples were found negative by both the culture and PCR methods, whereas remaining 16 (%20) were positive by at least one of the two methods; six samples were positive in both methods, nine were positive with PCR only, and one was positive with culture only. In this study, a statistically significant difference was found between these two methods by using Mac Nemar test ($p<0.021$).

Key Words: Group B Streptococcus, pregnancy, vaginal colonization, real-time PCR.

Giriş

Grup B Streptokok (GBS)'ler yenidoğanlarda yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden sepsis, pnömoni ve/veya menenjitte neden olabilirler (1). Erişkinlerde ise doğum sonrası maternal üriner sistem enfeksiyonları, koryoamniyonit, endometrit, sepsis ve daha nadir olarak da menenjitte neden olabilirler (2, 3). Yenidoğan GBS enfeksiyonları erken başlangıçlı (< 7 gün) veya geç başlangıçlı (7 gün-ay) olarak iki şekilde karşımıza çıkar. Erken başlangıçlı enfeksiyonlar çoğunlukla ilk 24 saatte olmak üzere yaşamın ilk üç gününde görülürler ve klinik olarak en sık sepsis ve pnömoni tablosu oluştururlar (1, 2, 4, 5).

Genital ya da rektal GBS kolonizasyonu olan annelerden doğan bebekler GBS enfeksiyonları için risk taşırlar (2, 4, 6). Tarama sonrası riskli annelerin tedavi edilmesi şeklindeki koruyucu uygulamalar ile GBS'ye bağlı neonatal sepsis insidansının, bölgesel farklılıklar göstermekle beraber, son yıllarda her 1000 canlı doğumda 0,34-0,37'lere kadar düştüğü bildirilmiştir (6). Bu nedenle gebelerin GBS taşıyıcılığı açısından taranması önem arz etmektedir. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) tüm gebelerin 35-37. gebelik haftalarında seçici sıvı besiyeri kullanılarak GBS varlığı açısından taranmasını ve pozitiflik saptanan gebelere doğum sırasında antibiyotik tedavisi verilmesini önermektedir (6). Bu yöntem, kanlı agara subkültür yapmayı ve sonrasında tanımlama ile ilgili ek testlerin uygulanmasını gerektirdiğinden en az 48-72 saate ihtiyaç duymaktadır (7). Ayrıca, bazı gebelerin erken doğum yapması, bazı gebeler için prenatal bakımın yetersiz olması ve prenatal taramalarda negatif olarak değerlendirilen gebelerin 35. gebelik haftası ile doğum arasına GBS ile kolonize olabilmesi gibi nedenler prenatal taramanın klinik yararlılığını azaltmaktadır (8). Örneğin, prenatal GBS kültürünün doğum anındaki kolonizasyonu saptamada düşük duyarlılığa sahip olduğu ve prenatal dönemde GBS negatif olarak değerlendirilen kadınların %10'unda doğum anında GBS pozitifliği saptandığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (9-11). Bu nedenle, prenatal dönemde yapılan taramanın doğum anındaki GBS kolonizasyonunu göstermede yetersiz olabileceği ve kültüre dayalı yöntemlerin prenatal tarama için uygun olduğu halde sonuçlanma süresinin uzunluğu nedeniyle intrapartum dönemde kısıtlı uygulanabilirliğe sahip olacağı göz ardı edilmemelidir (12-14).

Son zamanlarda kısa sürede sonuç verebilmeleri

Gümral ve ark.

*GATA Tıbbi Mikrobiyoloji AD, ANKARA

**Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, ANKARA

Ayrı basım isteği: Ramazan GÜMRAL, GATA Tıbbi Mikrobiyoloji AD, ANKARA.

E-posta: rgumral@gata.edu.tr

Makalenin Geliş Tarihi: 10.05.2013 • Kabul Tarihi: 12.08.2013 • Çevrim İçi Basım Tarihi: 20.06.2014

sayesinde intrapartum uygulanabilen PZR, optik immünoassay, DNA hibridizasyon testleri, ELISA ve lateks aglütinasyon gibi hızlı testler önem kazanmıştır (15-21). Yapılan çalışmalar PZR dışındaki diğer hızlı tanı yöntemlerinin yalancı pozitiflik ve yalancı negatiflik oranlarının yüksek olduğunu göstermektedir. Örneğin, antijen saptama temeline dayalı hızlı testlerin kültür gibi duyarlı ve özgül olmadıkları, sadece ağır kolonize kadınlarda veya standart seçici sıvı besiyeri kültürlerinde GBS varlığını saptamada kullanılabilir oldukları gösterilmiştir (22). GBS varlığını saptamada kullanılan hibridizasyon temelli yöntemler ise sürüntü örneklerinin seçici zenginleştirilmiş sıvı besiyeri kültürlerinde bir gecelik inkübasyonunu takiben uygulandığında daha başarılı iken, gebe kadınlardan alınan klinik örneklerde doğrudan GBS saptanması ve tanımlanmasında hala yeterli derecede duyarlı değildir (23).

Bu çalışma son zamanlarda yapılan çeşitli çalışmalarla bazı kısıtlılıkları ortaya konmuş olmasına rağmen, GBS kolonizasyonunu araştırmada halen yaygın olarak kullanılmakta olan konvansiyonel kültür yönteminin etkinliğini laboratuvarımızda kullanmakta olduğumuz PZR temelli moleküler yöntemle karşılaştırmayı ve klasik kültür yöntemini uygulamanın olası olumsuz klinik sonuçlarına dikkat çekmeyi amaçlamaktadır.

Gereç ve Yöntem

Örneklerin toplanması: Prospektif olarak yapılan bu çalışmaya Gülhane Askeri Tıp Akademisi Etik Kurulu'nun 29 Nisan 2011 tarihli, 1504 sayılı kararı alındıktan sonra başlandı. Çalışmaya Mayıs 2011-Haziran 2011 tarihleri arasında Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi polikliniğine rutin kontrol için gelen ve bilgilendirilmiş onam formları alınan üçüncü trimester 80 gebe dahil edildi. Çalışma kapsamında her bir gebeden transport besiyerine (stuart) iki adet vajinal sürüntü örneği alındı. Sürüntü örneklerinden biri konvansiyonel kültür işlemleri ve diğeri moleküler analizler için kullanıldı. Örneklerin bir saat içinde Gülhane Askeri Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına nakledilmesi sağlandı.

Konvansiyonel kültür yöntemi: Steril koşullarda laboratuvara ulaştırılan örnekler en kısa süre içerisinde doğrudan %5 koyun kanlı agar besiyerlerine ekildi. İnoküle edilen plaklar % 5 CO₂'li ortamda 37°C'lik etüvde 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Kanlı agarda morfolojisi streptokoklarla uyumlu olan kolonilere katalaz testi yapıldı. Katalaz-negatif olan ve Gram boyamada zincir benzeri görünüm gösteren gram-pozitif kok morfolojisindeki her izolat GBS olup olmadığı yönünden incelendi. Bu isolatların tanımlanması için Christie Atkins Munch-Petersen (CAMP) testi (standart suş olarak *S. aureus* ATCC 43300 kullanıldı), sodyum hippurat hidrolizi, basitrasin ve trimetoprim-sülfametaksazol direnci ve lateks aglütinasyon testleri (Avipath-Strep; Omega Diagnostics, United Kingdom) kullanıldı (24). Çalışmada standart suş olarak *S. agalactiae* ATCC 13813 kullanıldı.

Gerçek zamanlı PZR analizleri: Sürüntü örneklerinden Grup B streptokok DNA'sının elde edilmesi standart alkali fenol-kloroform-izoamil alkol yöntemi ile yapıldı (25). Gerçek

zamanlı PZR reaksiyonları Oligo Yap 4.0 (26) yazılım programı ile dizayn edilen primerler ve prob kullanılarak, Kilic ve ark.'nın (27) çalışmasına göre ABI PRISM 7500 (Applied Biosystems, ABD) cihazı ile gerçekleştirildi. Gerçek zamanlı PZR testi için alınan örnekler çalışma anına kadar -20°C'de saklandı.

İstatistiksel analizler: Veriler SSPS 18.0 (SSPS, Inc, Chicago, USA) istatistik programı kullanılarak yapıldı. İstatistiksel karşılaştırmada Mc Nemar testi kullanıldı.

Bulgular

Toplam 80 örneğin dahil edildiği çalışmada 6 gebede hem kültür yöntemi hem de gerçek zamanlı PZR testi ile, bir gebede sadece kültür yöntemiyle ve 9 gebede sadece PZR ile olmak üzere toplam 16(%20) gebede vajinal GBS kolonizasyonu saptanırken, 64 örnek (%80) yöntemlerin her ikisi ile de negatif olarak değerlendirildi. Tablo I'de karşılaştırmalı olarak da gösterildiği gibi kültür yönteminin ve gerçek zamanlı PZR testinin GBS pozitiflik oranları sırasıyla %8,75(7/80) ve %18,75(15/80) olarak bulundu. Kültür yöntemi ve gerçek zamanlı PZR testi vajinal GBS taşıyıcılığını saptama etkinliği yönünden değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak aralarında anlamlı fark (p<0.021) bulundu.

Tablo I. Kültür ve gerçek zamanlı PZR sonuçlarının karşılaştırması

Kültürde üreme	Gerçek zamanlı PZR		TOPLAM
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	6	1	7
Negatif	9	64	73
TOPLAM	15	65	80

Tartışma

GBS enfeksiyonları korunulabilir ve tedavi edilebilir olmasına karşın gebeler ve özellikle yeni doğanlar için önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Söz konusu enfeksiyonların yenidoğanlara geçişi GBS kolonizasyonu olan annelerden hematogen ve transplasental yolla veya nadiren de olsa hastane enfeksiyonu şeklindeki bulaşmalarla olmaktadır (2). Gebe kadınların yaklaşık %10-40'ının vajinal veya rektal GBS kolonizasyonu olduğu ve bu gebelerin %40-70'inin GBS'leri yenidoğanlara transfer ettiği bildirilmektedir (4, 6). Bu enfeksiyonların mortalite oranları term yenidoğanlarda %2-3'lerde iken, pretermelerde %20-30 arasında değişmektedir (1, 6). Yenidoğanda yüksek mortalite ve morbidite ile seyreden GBS enfeksiyonlarının erken tanısı ve önlenmesine yönelik ulusal programlara gereksinim vardır. CDC tarafından 2010 yılında yayımlanan "Perinatal Grup B Streptokokkal Enfeksiyonların Önlenmesi" başlıklı kılavuzda tüm gebe kadınların gebeliğin 35-37. haftalarında vajinal ve rektal kolonizasyon açısından taranması ve kültür sonucuna göre intrapartum penisilin kullanılması önerilmektedir (6).

CDC'nin önerdiği tarama yaklaşımı ile ilgili bazı kısıtlamalar bulunmaktadır. Birincisi; gebeliğin 35-37.

haftalarında yapılan prenatal tarama 35. gebelik haftasından önce doğum yapan kadınları kapsamamaktadır. Gebelerin %7-11'i standart taramanın yapıldığı 35-37. haftalardan önce doğum yapmakta ve erken başlangıçlı GBS enfeksiyonlarının %32-38'i bu grupta yer alan kadınlardan doğan yenidoğanlarda görülmektedir (12). İkinci olarak, gebelik sırasında GBS kolonizasyonunun geçici veya sürekli olabileceği ve 35-37. haftalarda kültür sonuçları negatif olarak değerlendirilen gebelerin doğuma kadarki süreçte GBS ile kolonize olabildiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (6, 8, 10, 18). Puopolo ve ark. (11) erken başlangıçlı GBS enfeksiyonu olan yenidoğanların %82,4'ünün prenatal GBS taraması negatif annelere sahip olduklarını bildirmişlerdir. Bu yüksek oranın kadınların tarama sonrası dönemde kolonize olmasından veya yanlış negatif test sonuçlarından kaynaklanıp kaynaklanmadığı tam olarak bilinmemektedir. Kolonizasyonun geçici olabilmesi 35-37. haftalarda saptanan taşıyıcılığın erken başlangıçlı GBS enfeksiyonlarındaki prediktif değerini azaltmaktadır (12, 14). CDC tarafından önerilen yaklaşımın üçüncü bir kısıtlaması ise prenatal bakımı yetersiz olan veya doğum anındaki tarama sonucu bilinmeyen kadınların bulunmasıdır.

Yukarıda sıralanan sebeplerden dolayı CDC tarafından önerilen 35-37. gebelik haftalarında yapılacak kültüre dayalı taramanın doğum anındaki kolonizasyonu göstermedeki etkinliği tartışmalıdır. Tüm bunlara ek olarak, GBS varlığını gösterebilmesi için örnekte canlı mikroorganizmaların olmasına gereksinim duyması ve düşük sayıda canlı bakteri varlığında üremenin floradaki saprofit mikroorganizmalar ve kullanılan hijyen ürünleri tarafından baskılanabilmesi gibi faktörler de kültür yönteminin duyarlılığını azaltabilmektedir (7, 28-30). GBS suşlarının %4'ünün beta hemoliz yapmıyor olması ise kültürdeki üremelerin değerlendirilmesini olumsuz olarak etkileyen bir diğer faktördür (6). Yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı, intrapartum dönemde uygulanacak bir tarama stratejisi yenidoğan enfeksiyonları için daha anlamlı bir risk öngörüsü sağlayacaktır. Bu verilere paralel olarak intrapartum tarama önemli bir gereksinim haline gelmiş ve bu dönemde uygulanabilen ve yüksek duyarlılıklarının yanında aynı gün içerisinde sonuç verebilmeleri nedeniyle klinik yararlılıkları ile de ön plana çıkan moleküler yöntemler günümüzde daha da önem kazanmıştır.

GBS kolonizasyonunun sıklığı ırk, yaşanan coğrafi bölge, sosyokültürel alışkanlıklar ve çalışma koşullarındaki standartlara bağlı olarak belirgin farklılıklar göstermektedir (CDC, 1996). GBS kolonizasyon oranları ülkemizde yapılan çalışmalarda %3-32 aralığında değişmektedir (31-35). Yaptığımız çalışmada son trimester gebelerde bulduğumuz %20'lik GBS kolonizasyon oranı geçmiş çalışmaların verileriyle paralellik göstermektedir.

Ülkemizde gebelerde GBS kolonizasyonunun saptanmasına yönelik yapılan çalışmalara bakıldığında çoğunluğunun prevalans belirlemeye yönelik olduğu dikkati çekmektedir. Standart kültür yönteminin kullanıldığı bu

çalışmalar moleküler yöntemler ile karşılaştırmalı sonuçlar sunmadığı için çalışma verilerimizi ülkemizdeki diğer çalışmalarla kıyaslamamız mümkün olmadı. Bununla beraber GBS kolonizasyonunun araştırılmasında kültür ve moleküler yöntemlerin karşılaştırıldığı birçok uluslararası çalışma bulunmaktadır. Farklı gen bölgelerini hedefleyen konvansiyonel ve gerçek zamanlı PZR tekniklerinin kullanıldığı birçok moleküler yöntem tanımlanmış ve PZR temelli bu yöntemlerin GBS kolonizasyonunu saptamada konvansiyonel kültür yöntemlerine göre daha hızlı ve daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (7, 12, 14, 17-20, 36-41).

Kültüre dayalı yöntemlerin duyarlılıkları moleküler yöntemler ile kıyaslandığında önemli oranda düşük olduğundan, özellikle de bizim çalışmamızda olduğu gibi doğrudan seçici olmayan besiyerlerine ekim yapılan çalışmalarda duyarlılık daha da düşmektedir. Rallu ve ark. (17) yaptıkları bir çalışmada koyun kanlı agara ekim yönteminin duyarlılığını %42,3 olarak bulmuştur. Montague ve ark. (19) ise bu yöntemin duyarlılığını %68,4 olarak saptamış ve seçici besiyerine ekim ile duyarlılığın %85,5'e yükseldiğini göstermişlerdir. Doğrudan %5 koyun kanlı agara ekim yönteminin kullanıldığı çalışmamızda 80 vajinal örneğin sadece 7'sinde kültürde GBS üremesi saptadık. Çalışmamızda kültürde GBS üreme oranının düşük olmasının bir nedeni olarak seçici sıvı besiyerine ekim ve sonrasında subkültür yapılması şeklindeki yaklaşımın tercih edilmemiş olması düşünüldü. Bununla beraber, bahsi geçen ikinci yaklaşımın prenatal taramalarda uygulanabilir olduğu halde, geç sonuç vermesi nedeniyle klinik açıdan daha anlamlı sonuçlar veren intrapartum uygulamalar için efektif olmayacağı söylenebilir.

Yakın dönemde yapılan çalışma sonuçları kullanılan PZR yöntemi ve seçilen hedef gen bölgesine bağlı olarak PZR ile saptama oranlarının %3-21 oranında artabileceğini göstermektedir (17, 39-41). Rallu ve ark.'nın (17) 605 gebe üzerinde yaptıkları bir çalışmada GBS kolonizasyon oranları kültür ile %16, cfb PZR ile %28 ve scpB PZR ile %37 olarak bulunmuş ve saptama duyarlılığının PZR temelli yöntemler ile kültür yöntemine göre 1,5 ila 2,5 kat arttığı gösterilmiştir. Benzer şekilde çalışmamızda gerçek zamanlı PZR (n=15) ile saptama oranının kültür yöntemine (n=7) göre 2 kat arttığını belirledik.

Sonuç olarak, gebelik süresince GBS kolonizasyonunun değişkenlik gösterdiği göz önüne alındığında enfeksiyon etkeni bakterinin kolonize annelerden bebeklere geçiş riskini belirlemede intrapartum dönemde yapılacak taramaların daha değerli olacağı açıktır. Bu nedenle doğum anındaki kolonizasyonun saptanmasında gerçek zamanlı PZR gibi direkt klinik örneklerden çalışılabilen, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek, hızlı sonuç verebilen moleküler testlerin kullanılmasıyla yenidoğan enfeksiyonlarının ve bu enfeksiyonların olumsuz etkilerinin daha düşük düzeylere inebileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Pettersson K. Perinatal infection with Group B streptococci. *Semin Fetal Neonatal Med* 2007; 12(3): 193-197.
2. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Obstetric Practice. ACOG Committee Opinion No. 485: Prevention of early-onset group B streptococcal disease in newborns. *Obstet Gynecol* 2011; 117(4): 1019-1027.
3. Gibbs RS, Schrag S, Schuchat A. Perinatal infections due to group B streptococci. *Obstet Gynecol* 2004; 104: 1062-1076.
4. Natarajan G, Johnson YR, Zhang F, Chen KM, Worsham MJ. Real-time polymerase chain reaction for the rapid detection of group B streptococcal colonization in neonates. *Pediatrics* 2006; 118(1): 14-22.
5. Daniels J, Gray J, Pattison H, et al. Rapid testing for group B streptococcus during labour: a test accuracy study with evaluation of acceptability and cost-effectiveness. *Health Technol Assess* 2009; 13(42): 1-154.
6. Verani JR, McGee L, Schrag SJ. Division of Bacterial Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of perinatal group B streptococcal disease--revised guidelines from CDC, MMWR Recomm Rep 2010; 59(RR-10): 1-36.
7. El Aila NA, Tency I, Claeys G, et al. Comparison of culture with two different qPCR assays for detection of rectovaginal carriage of *Streptococcus agalactiae* (group B streptococci) in pregnant women. *Res Microbiol* 2011; 162(5): 499-505.
8. Wei CF, She BC, Liang HS, et al. Prenatal Group B *Streptococcus* test using real-time polymerase chain reaction. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2009; 48(2): 116-119.
9. Towers CV, Rumney PJ, Asrat T, Preslicka C, Ghamsary MG, Nageotte MP. The accuracy of late third-trimester prenatal screening for group B streptococcus in predicting colonization at delivery. *Am J Perinatol* 2010; 27(10): 785-790.
10. Valkenburg-van den Berg AW, Houtman-Roelofsen RL, Oostvogel PM, Dekker FW, Dörr PJ, Sprij AJ. Timing of group B streptococcus screening in pregnancy: a systematic review. *Gynecol Obstet Invest* 2010; 69(3): 174-183.
11. Puopolo KM, Madoff LC, Eichenwald EC. Early-onset group B streptococcal disease in the era of maternal screening. *Pediatrics* 2005; 115: 1240-1246.
12. El Helali N, Nguyen JC, Ly A, Giovangrandi Y, Trinquart L. Diagnostic accuracy of a rapid real-time polymerase chain reaction assay for universal intrapartum group B streptococcus screening. *Clin Infect Dis* 2009; 49(3): 417-423.
13. Honest H, Sharma S, Khan KS. Rapid tests for group B *Streptococcus* colonization in laboring women: a systematic review. *Pediatrics* 2000; 117(4): 1055-1066.
14. Haberland CA, Benitz WE, Sanders GD, et al. Perinatal screening for group B streptococci: cost-benefit analysis of rapid polymerase chain reaction. *Pediatrics* 2002; 110(3): 471-480.
15. Bergeron MG, Ke D, Menard C et al. Rapid detection of group B streptococci in pregnant women at delivery. *N Engl J Med* 2000; 343:175-179.
16. Guerrero C, Martínez J, Menasalvas A, Blázquez R, Rodríguez T, Segovia M. Use of direct latex agglutination testing of selective broth in the detection of group B streptococcal carriage in pregnant women. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23(1): 61-62.
17. Rallu F, Barriga P, Scrivo C, Martel-Laferriere V, 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. *J Clin Microbiol* 2006; 3: 725-728.
18. Gavino M, Wang E. A comparison of a new rapid real-time polymerase chain reaction system to traditional culture in determining group B streptococcus colonization. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 197: 388.e1-388.e4.
19. Montague NS, Cleary TJ, Martinez OV, Procop GW. Detection of group B streptococci in Lim broth by use of group B streptococcus peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization and selective and nonselective agars. *J Clin Microbiol* 2008; 46(10): 3470-3472.
20. Scicchitano LM, Bourbeau PP. Comparative evaluation of the AccuProbe group B streptococcus culture test, the BD GeneOhm Strep B assay, and culture for detection of group B streptococci in pregnant women. *Journal of Clinical Microbiology* 2009; 47(9): 3021-3023.
21. Daniels JP, Gray J, Pattison HM, Gray R, Hills RK, Khan KS. GBS Collaborative Group. Intrapartum tests for group B streptococcus: accuracy and acceptability of screening. *BJOG* 2011; 118(2): 257-265.
22. Bergeron MG, Ke D. New DNA-based PCR approaches for rapid real-time detection and prevention of group B streptococcal infections in newborns and pregnant women. *Expert Rev Mol Med* 2001; 3(27): 1-14.
23. Picard FJ, Bergeron MG. Laboratory detection of group B *Streptococcus* for prevention of perinatal disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23(9): 665-671.
24. Spellerberg B, Brandt C. *Streptococcus* In: Murray

- PR, Baron EJ, Landry L, Jorgensen JH, Pfaller MA (eds). *Manual Of Clinical Microbiology*, 9th ed. Washington DC, ASM Press, 2007: 412-429.
25. Yapar M, Saygun I, Ozdemir A, Kubar A, Sahin S. Prevalence of human herpesviruses in patients with aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2003; 74(11): 1634-1640.
26. Yapar M, Aydogan H, Pahsa A, et al. Rapid and quantative detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by one step real-time reverse transcriptase PCR. *Jpn J Infect Dis* 2005; 58(6): 358-362.
27. Kilic A, Guclu AU, Senses Z, Bedir O, Aydogan H, Basustaoglu AC. Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) characterization and panton-valentine leukocidin gene occurrence for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Turkey, from 2003 to 2006. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2008; 94(4): 607-14.
28. Wernecke M, Mullen C, Sharma V, et al. Evaluation of a novel real-time PCR test based on the *ssrA* gene for the identification of group B streptococci in vaginal swabs. *BMC Infect Dis* 2009; 9: 1-8.
29. Block T, Munson E, Culver A, Vaughan K, Hryciuk JE. Comparison of carrot broth- and selective Todd-Hewitt broth-enhanced PCR protocols for real-time detection of *Streptococcus agalactiae* in prenatal vaginal/anorectal specimens. *J Clin Microbiol* 2008; 46(11): 3615-3620.
30. Ostroff RM, Steaffens JW. Effect of specimen storage, antibiotics, and feminine hygiene products on the detection of group B *Streptococcus* by culture and the STREP B OIA test. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1995; 22(3): 253-259.
31. Gül HC, Dede M, Avcı İY, Eyigün CP, Pahsa A. Üçüncü trimestr hamilelerde vaginal grup B streptokok kolonizasyonu. *Klinik Dergisi* 2005; 18(1): 27-29.
32. Eren A, Küçükercan M, Oğuzoğlu N, Unal N, Karateke A. The carriage of group B streptococci in Turkish pregnant women and its transmission rate in newborns and serotype distribution. *Turk J Pediatr* 2005; 47(1): 28-33.
33. Arısoy AS, Altınışık B, Tunger O, Kurutepe S, Ispahi C. Maternal carriage and antimicrobial resistance profile of group B *Streptococcus*. *Infection* 2003; 31(4): 244-246.
34. Yenişehirli G, Bulut Y, Demirtürk F, Çalışkan AC. Antimicrobial susceptibilities and serotype distribution of *Streptococcus agalactiae* strains isolated from pregnant women. *Mikrobiyol Bul* 2006; 40(3): 155-160.
35. Kadanalı A, Altöparlak Ü, Kadanalı S. Maternal carriage and neonatal colonisation of group B *Streptococcus* in eastern Turkey: prevalence, risk factors and antimicrobial resistance. *Int J Clin Pract* 2005; 59(4): 437-440.
36. Shabayek S, Abdalla S, Abouzeid AM. Comparison of *scpB* gene and *cfb* gene polymerase chain reaction assays with culture on Islam medium to detect Group B *Streptococcus* in pregnancy. *Indian J Med Microbiol* 2010; 28(4): 320-325.
37. Bergseng H, Bevanger L, Rygg M, Bergh K. Real-time PCR targeting the *sip* gene for detection of group B streptococcus colonization in pregnant women at delivery. *Journal of Medical Microbiology* 2007; 6: 223-228.
38. Riedlinger J, Beqaj SH, Milish MA, et al. Multicenter evaluation of the BD Max GBS assay for detection of group B streptococci in prenatal vaginal and rectal screening swab specimens from pregnant women. *J Clin Microbiol* 2010; 48(11): 4239-4241.
39. Goodrich JS, Miller MB. Comparison of culture and 2 real-time polymerase chain reaction assays to detect group B *Streptococcus* during antepartum screening. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 59(1): 17-22.
40. Davies HD, Miller MA, Faro S, Gregson D, Kehl SC, Jordan JA. Multicenter study of a rapid molecular-based assay for the diagnosis of group B *Streptococcus* colonization in pregnant women. *Clin Infect Dis* 2004; 39(8): 1129-1135.
41. Convert M, Martinetti Lucchini G, Dolina M, Piffaretti JC. Comparison of LightCycler PCR and culture for detection of group B streptococci from vaginal swabs. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11(12): 1022-1026.