مجله دنیای میکروب‌ها
سال چهارم، شماره سوم و چهارم (پیاپی ۱۱)، زمستان ۱۳۹۰
صفحات ۹۲-۸۴

Original Article

بررسی ارتباط فیلوژنتیک و مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *اشریشیا کلی* اوروپاتوژنیک

زهرا اعتبارزاده*[۱]، مژگان عشاقی[۲]، نور امیرمظفری[۳]

[۱]کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه زیست شناسی، [۲] استادیار، دانشگاه علوم پزشکی تهران، [۳] دانشیار، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

سابقه و هدف: عفونت‌های دستگاه ادراری جزء شایع‌ترین بیماری‌های عفونی می‌باشند. امروزه باکتری *اشریشیا کلی* به عنوان غالب‌ترین عامل ایجاد کننده عفونت ادراری در ۹۰-۸۰ درصد از بیماران گزارش شده است. با توجه به افزایش روزافزون مصرف آنتی‌بیوتیک و به دنبال آن ایجاد مقاومت دارویی این مطالعه با هدف ارزیابی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *اشریشیا کلی* جداسازی شده از بیماران مشکوک به عفونت ادراری و نیز گروه‌بندی فیلوژنتیک این سویه‌ها انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: این پژوهش به صورت مقطعی _توصیفی بر روی ۶۰۰ نمونه کشت مشکوک به عفونت ادراری جمع آوری شده از بیمارستان کلیوی فوق تخصصی شهید هاشمی نژاد تهران انجام شد. به منظور جداسازی سویه‌های *اشریشیا کلی* تمامی نمونه‌ها با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی و میکروبی مورد بررسی قرار گرفتند. سپس با استفاده از روش استاندارد انتشار دیسک (Kirby-Bauer) آزمون حساسیت دارویی بر روی ۸ گروه مختلف آنتی‌بیوتیکی انجام شد. به منظور تایپینگ و گروه‌بندی فیلوژنتیک سویه‌های *اشریشیا کلی* از روش Multiplex PCR و پرایمرهای اختصاصی ژن‌های *chuA*، *yjaA* و نیز قطعه TSPE4.C2 استفاده گردید.

یافته‌ها: در این مطالعه بیشترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۸۳/۸۳٪) و نالیدیکسیک اسید (۷۱/۴۲٪) و کم‌ترین آن نسبت به نیتروفورانتوئین (۳/۱۲٪) و سفتی‌زوکسیم (۱۱/۲۲٪) مشاهده گردید. با ارزیابی گروه فیلوژنتیک مشخص شد که ۶۵٪ سویه‌ها به گروه B2، ۱۹٪ به گروه D و ۱۶٪ نیز به گروه فیلوژنتیک A تعلق دارند. همچنین بیشتر سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها و نیز سویه‌های مقاوم به چند دارو متعلق به گروه فیلوژنتیک B2 بودند.

نتیجه‌گیری: *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت‌های دستگاه ادراری در این منطقه، بیشتر متعلق به گروه فیلوژنتیک B2 بودند که با اغلب پژوهش‌های انجام شده در دنیا هم‌خوانی دارد.

واژگان کلیدی: *اشریشیاکلی*، فیلوتایپینگ، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، عفونت دستگاه ادراری

دریافت مقاله: مرداد ۱۳۹۰ *پذیرش برای چاپ:* آبان ۱۳۹۰

*) آدرس برای مکاتبه: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه زیست شناسی

تلفن: ۰۹۱۶۶۱۳۴۶۷۳

پست الکترونیکی: zahra_etebarzadeh@yahoo.com

مقدمه

عفونت‌های مجاری ادراری جزء شایع‌ترین بیماری‌های عفونی می‌باشند. به طوری که سالیانه در حدود ۱۵۰ میلیون نفر در جهان به این بیماری مبتلا می‌شوند (۱). امروزه باکتری *اشریشیا کلی* به عنوان غالب‌ترین عامل ایجاد کننده عفونت‌های دستگاه ادراری در ۹۰-۸۰ درصد از بیماران گزارش شده است (۲). با بررسی کتابخانه ژنی گروه‌های مختلف فیلوژنتیک سویه‌های *اشریشیا کلی* و نیز تعیین خصوصیت قطعات ژنتیکی متفاوت، مشخص شده است که ژن‌ها یا قطعات خاصی از DNA باکتری می‌توانند به عنوان مارکرهای تخصصی در گروه‌بندی فیلوژنتیک سویه‌های *اشریشیا کلی* نقش مهمی ایفا نمایند (۳ و ٤) این سه مارکر پیشنهاد شده عبارتند از: ۱) *chuA*: ژنی که برای انتقال در *اشریشیا کلی* انتروهموراژیک O157:H7 ضروری است (۳). ۲) *yjaA*: ژنی که اولین بار در توالی کامل ژنوم *اشریشیا کلی* K-12 شناسایی شده و عملکرد آن هنوز ناشناخته باقی مانده است (۵-۷) و ۳) قطعه TSPE4.C2 که از DNA کتابخانه ژنی *اشریشیا کلی* به دست آمده است (۳).

سویه‌های *اشریشیا کلی* بر اساس چنین ساختارهای ژنتیک با روش ریبوتایپینگ و یا روش الکتروفورز آنزیم چند لوکوسی (Multi Locus Enzyme Electrophoresis= MLEE) به گروه‌های فیلوژنتیک مختلفی از جمله A، B1، B2 و D تقسیم بندی شده‌اند (۸ و ۹).

کلرمانت (Clermont) و همکاران در سال ۲۰۰۰ برای اولین بار از روش PCR به منظور ارزیابی ژن‌های *chuA*، *yjaA* و قطعه TSPE4.C2 در ۲۳۰ سویه *اشریشیا کلی* استفاده نمودند. از آن به بعد از تکنیک PCR به عنوان روشی ساده‌تر و سریع‌تر در مطالعات گروه‌بندی فیلوژنتیک استفاده گردید؛ زیرا دو تکنیک مرجع دیگر (ریبوتایپینگ و MLEE) پیچیده و زمان‌بر بوده و به مجموعه‌ای از سویه‌های الگو نیاز دارند (٤).

از آن‌جایی که ژن *chuA* در تمامی سویه‌های متعلق به گروه‌های B2 و D حضور دارد اما در گروه‌های B1 و A وجود ندارد، بنابراین می‌توان این دو گروه فیلوژنتیک را از یکدیگر جدا نمود. بر همین اساس ارزیابی حضور یا عدم حضور ژن *yjaA* موجب تفکیک کامل بین دو گروه B2 (۱۰۰٪ سویه‌ها مثبت) و D (۱۰۰٪ سویه ها منفی) می‌گردد. در نهایت قطعه TSPE4.C2 سویه‌های دو گروه B1 و A را از هم تفکیک می‌نماید. با توجه به مطالب یاد شده به نظر می رسد که گروه‌های B2 ، D و نیز گروه‌های B1 و A گروه‌های خواهری باشند که از لحاظ تاریخچه تکاملی احتمالاً دارای جد مشترک بوده‌اند (٤).

بیش از پنجاه سال از زمان استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان سریع و موثر بیماری‌های عفونی می‌گذرد. در طول این دوران، تغییرات زیادی در نوع آنتی‌بیوتیک‌های مصرفی و نیز حساسیت و مقاومت باکتری‌ها نسبت به آن‌ها ایجاد شده است (۱۰). به همین دلیل امروزه یکی از مهم‌ترین مسائل در درمان بیماری‌های عفونی، مقاومت باکتری‌های بیماری‌زا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها می باشد. اساس درمان مناسب در عفونت‌های ادراری، انتخاب آنتی‌بیوتیکی با کارایی بالا و ارزان می‌باشد. با توجه به افزایش روزافزون مصرف آنتی‌بیوتیک و متعاقب آن افزایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و نیز متفاوت بودن حساسیت *اشریشیا کلی* در مناطق مختلف دنیا، بررسی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی این باکتری ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این پژوهش گروه‌بندی فیلوژنتیک سویه‌های *اشریشیا کلی* جداسازی شده از بیماران مشکوک به عفونت ادراری و نیز ارزیابی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در آن‌ها بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت مقطعی – توصیفی از دی ماه ۱۳۸۹ تا تیر ماه ۱۳۹۰ بر روی ٦۰۰ نمونه کشت مشکوک به عفونت ادراری جمع آوری شده از بیمارستان کلیوی فوق تخصصی شهید هاشمی نژاد تهران انجام شد. تمامی نمونه‌ها با توجه به مشاهدات میکروسکوپی ادرار (گلبول‌های سفید و قرمز، سلول‌های اپی‌تلیال و باکتری) و نیز میزان قابل قبول رشد باکتری، مورد ارزیابی قرار گرفتند. جنس و گونه باکتری‌ها بر اساس روش‌های استاندارد شناسایی و تأیید گردید. به منظور انجام تست حساسیت دارویی از روش استاندارد انتشار دیسک (Kirby-Bauer) بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار استفاده شد. سپس ایجاد یا عدم ایجاد و اندازه هاله عدم رشد اطراف دیسک بر اساس معیارهای کمیته آزمایشگاهی بالینی (CLSI) مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه برای انجام تست آنتی‌بیوگرام از ۸ آنتی‌بیوتیک رایج در درمان عفونت‌های ادراری استفاده گردید (جدول ۲).

برای ارزیابی مولکولی سویه‌های جداسازی شده، ابتدا DNA باکتریایی با روش جوشاندن (Boiling) از نمونه‌ها استخراج گردید. به منظور تایپینگ و گروه‌بندی فیلوژنتیک سویه‌های *اشریشیا کلی* از روش Multiplex PCR استفاده شد. در این مطالعه برای تکثیر ژن‌های *chuA*، *yjaA* و نیز قطعه TSPE4.C2 از پرایمرهایی اختصاصی آن ها استفاده گردید (جدول ۱).

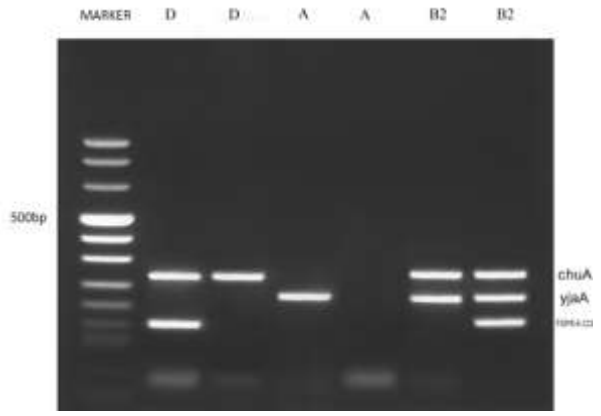
واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل: ۲/۵ میکرولیتر PCR buffer (10x)، ٤ میکرولیتر $MgCl_2$ (50mM)، ۳ میکرولیتر dNTPs (25mM)، ۳/۵ میکرولیتر آنزیم DNA پلی‌مراز *Taq*، ۸ میکرولیتر DDW، ۱/۵ میکرولیتر از هر آغازگر و ۱ میکرولیتر از نمونه DNA انجام گردید. واکنش PCR با شرایط دمایی ۵ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد و در ادامه ۳۰ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۵۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و در نهایت طویل شدن انتهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. به منظور شناسایی ژن‌های *chuA* و *yjaA* و قطعه TSPE4.C2 محصولات PCR به ژل آگاروز ۱/۵ درصد منتقل و الکتروفورز گردیدند. در نهایت سویه‌ها بر اساس حضور یا عدم حضور ژن‌ها و قطعه DNA گروه بندی شدند.

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه.

پرایمر	توالی (۳'→۵')	اندازه (جفت باز)
chuA (F)	GAC GAA CCA ACG GTC AGG AT	۲۹۷
chuA (R)	TGC CGC CAG TAC CAA AGA CA	
yjaA (F)	TGA AGT GTC AGG AGA CGC TG	۲۱۱
yjaA (R)	ATG GAG AAT GCG TTC CTC AAC	
TSPE4.C2 (F)	GAG TAA TGT CGG GGC ATT CA	۱۵۲
TSPE4.C2 (R)	CGC GCC AAC AAA GTA TTA CG	

جدول ۲: میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *اشریشیا کلی* مورد پژوهش.

آنتی‌بیوتیک	مقاوم	نیمه حساس	حساس
آمپی‌سیلین	٪۸۳/۸۳	٪۹/۰۹	٪۷/۰۷
نالیدیکسیک اسید	٪۷۱/٤۲	٪۵/۱۰	٪۲۳/٤٦
کوتریموکسازول	٪٦۷/۳٤	۰	٪۳۲/٦۵
تتراسیکلین	٪٦٤/٦٤	٪٤/۰٤	٪۳۱/۳۱
سفالوتین	٪٦۰/٦۰	٪۱۳/۱۳	٪۲٦/۲٦
جنتامایسین	٪۳۷/۳۷	۰	٪٦۲/٦۲
سفتی‌زوکسیم	٪۱۱/۲۲	٪۱٤/۲۸	٪۷٤/٤۸
نیتروفورانتوئین	٪۳/۱۲	٪۲/۰۸	٪۹٤/۷۹



شکل ۱: تصویر ژل الکتروفورز حاصل از PCR ژن‌های *chuA* و *yjaA* و قطعه TSPE4.C2.

نتایج

در این مطالعه پس از انجام آزمون‌های میکروب‌شناسی و نیز تست‌های تکمیلی بیوشیمیایی، حدود ۱۰۰ سویه *اشریشیا کلی* ادراری جداسازی شد. بیشترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (٪۸۳/۸۳) و نالیدیکسیک اسید (٪۷۱/٤۲) و کم‌ترین آن نسبت به نیتروفورانتوئین (٪۳/۱۲) و سفتی‌زوکسیم (٪۱۱/۲۲) گزارش گردید (جدول ۲).

نتایج حاصل از بررسی سویه‌های مقاوم به چند دارو (Multi-Drug Resistant = MDR) نشان داد که ٪۹/۰۹ سویه‌ها به طور هم‌زمان مقاوم به ۳ دارو، ٪۲۸/۲۸ سویه‌ها مقاوم به ٤ دارو، ٪٤۱/٤۱ سویه‌ها مقاوم به ۵ دارو یا بیشتر و ٪٤/۰٤ سویه‌ها حساس به تمامی داروهای مورد استفاده بودند. همچنین در این مطالعه سویه‌ای که بتواند به تنهایی به همه داروها مقاوم باشد مشاهده نگردید.

ارزیابی گروه فیلوژنتیک سویه‌های مورد بررسی در این پژوهش نشان داد که ٪٦۵ سویه‌ها به گروه فیلوژنتیک B2، ٪۱۹ متعلق به گروه فیلوژنتیک D و ٪۱٦ نیز به گروه فیلوژنتیک A تعلق داشتند (شکل ۱). همچنین در این مطالعه هیچ یک از سویه‌های جداسازی شده در گروهفیلوژنتیک B1 قرار نگرفتند.

بحث

امروزه افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های بیماری‌زا به یک مشکل جهانی تبدیل شده است. این امر را می‌توان به مصرف بی‌رویه و روزافزون داروها نسبت داد. متأسفانه کشور ما نیز از این قاعده مستثنی نمی‌باشد و تجویز زیاد داروها توسط پزشکان و استفاده ناصحیح از آنتی‌بیوتیک‌ها توسط بیماران موجب شیوع سویه‌های مقاوم در جامعه ما نیز شده است.

در مطالعه حاضر بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آمپی‌سیلین (٪۸۳/۸۳) و نالیدیکسیک اسید (٪۷۱/٤۲) و کم‌ترین مقاومت مربوط به نیتروفورانتوئین (٪۳/۱۲) و سفتی‌زوکسیم (٪۱۱/۲۲) گزارش گردید. این یافته‌ها با نتایج به دست آمده در نقاط مختلف دنیا مطابقت دارد (۱۱–۱٤).

تامبرکار (Tamberkar) و همکاران در سال ۲۰۰٦ در هند پس از بررسی ٦۸ نمونه ادراری، موفق به جداسازی ۵۹٪ سویه‌های *اشریشیا کلی* شدند. در مطالعه آن‌ها بیشترین میزان مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین (٪۸۷) و کوتریموکسازول (٪۹۱) و کم‌ترین میزان نسبت به نیتروفورانتوئین (٪۲۹) گزارش گردید (۱۱). نتایج به دست آمده در مطالعه تانخیوال (Tankhiwale) و همکاران در سال ۲۰۰٤ نشان داد که

بیشترین مقاومت سویه‌های *اشریشیا کلی* نسبت به کوتریموکسازول (۸۲٪) و آمپی‌سیلین (۷۹/۹٪) و کم‌ترین مقاومت نسبت به نیتروفورانتوئین (۳۸٪) و سفتی‌زوکسیم (٤۱/۳٪) بوده است (۱۲). آندراد (Andrade) و همکاران در سال ۲۰۰٦ در مطالعه‌ای در آمریکای لاتین ٦۱۱ نمونه ادراری را مورد بررسی قرار دادند. سویه‌های *اشریشیا کلی* در ٦٦٪ موارد جداسازی گردیدند. همچنین بیشترین مقاومت این سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین (۵۳/٦٪) و کم‌ترین مقاومت نسبت به ایمی‌پنم (۰٪) بود (۱۳).

کوتریموکسازول آنتی‌بیوتیکی وسیع‌الطیف است که در عفونت‌های ادراری و غیره کاربردهای فراوانی دارد. با این وجود در مطالعه حاضر ٦۷/۳٤٪ سویه‌ها به این آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند. این امر می‌تواند نشان دهنده افزایش مقاومت روز افزون باکتری‌های بیماری‌زا نسبت به کوتریموکسازول باشد. سفالوتین جزء آنتی‌بیوتیک‌های نسل اول سفالوسپورین‌ها می‌باشد که به عنوان داروی خط اول در درمان بسیاری از عفونت‌های ادراری مورد استفاده قرار می‌گیرد. اما در مطالعه حاضر با توجه به مقاومت ٦۰/٦۰٪ سویه‌ها، مقاومت قابل توجه نسبت به این آنتی‌بیوتیک مشاهده گردید. این امر را می‌توان به مصرف بی‌رویه این گروه از داروها نسبت داد. از آن‌جایی که آنتی‌بیوتیک نیتروفورانتوئین از جمله داروهای انتخابی برای درمان عفونت ادراری است و نیز با توجه به عدم مقاومت چشمگیر (۳/۱۲٪) سویه‌ها نسبت به این آنتی‌بیوتیک، بنابراین در صورت تحمل دارو توسط بیمار این آنتی‌بیوتیک می‌تواند هم‌چنان به عنوان یک داروی مناسب در درمان عفونت ادراری مورد استفاده قرار گیرد. در مطالعه جاری میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک سفتی‌زوکسیم ۱۱/۲۲٪ بوده است. بنابراین می‌توان هم‌چنان امیدوار بود که میزان شیوع مقاومت دارویی به نسل سوم سفالوسپورین‌ها در میان سویه‌های جداسازی شده شایع نمی‌باشد. شاید بتوان دلیل این امر را به استفاده بسیار کم این گروه از داروها در درمان عفونت ادراری نسبت داد. در این پژوهش سویه‌های *اشریشیا کلی* پس از آمپی‌سیلین بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید (۷۱/٤۲٪) داشتند. از آن‌جایی که این دارو از جمله داروهای گروه کینولون‌ها است که در درمان عفونت‌های ادراری مورد استفاده قرار می‌گیرد و جزء داروهای احتمالی تجویز شده توسط پزشکان می‌باشد، بنابراین مقاومت قابل توجه باکتری‌ها نسبت به این دارو مشاهده خواهد شد. همان گونه که در این مطالعه مشهود است درصد سویه‌های مقاوم به چند دارو (به ویژه ۵ دارو)، بسیار چشمگیر می‌باشد (٤۱/٤۱٪). با توجه به مشکلات ناشی از درمان سویه‌های مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک(MDR)، به‌ویژه در افراد دارای بیماری زمینه‌ای یا ضعف سیستم ایمنی، در نتیجه پراکندگی این سویه‌ها در جامعه و یا در عفونت‌های بیمارستانی حائز اهمیت می‌باشد. بنابراین باید اقدامات لازم در راستای کنترل عفونت و نیز رعایت نکات بهداشتی به منظور حذف یا کاهش این نوع سویه‌ها به ویژه در بیمارستان‌ها بسیار جدی گرفته شود.

در مطالعه حاضر علاوه بر ارزیابی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *اشریشیا کلی* اوروپاتوژن، وابستگی مقاومت دارویی به گروه‌های فیلوژنتیک این سویه‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش سویه‌های جداسازی شده به ترتیب به گروه‌های فیلوژنتیک B2 (٦۵٪)، D (۱۹٪) و A (۱٦٪) تعلق داشتند. این یافته‌ها با نتایج به دست آمده در سایر مطالعات انجام شده مبنی بر غالب بودن گروه‌های B2 در سویه‌های بیماری‌زای *اشریشیا کلی* مطابقت دارد (۱، ٤، ۱۵ و ۱٦). اما با مطالعه مورنو (Moreno) و همکاران و نیز جانسون (Johnson) و

همکاران که به ترتیب گروه‌های A و D غالب شناخته شده‌اند هم‌خوانی ندارد (۱۷ و ۱۸). اسعدی و همکاران در سال ۱۳۸۹ با فیلوتایپینگ سویه‌های *اشریشیا کلی* اوروپاتوژنیک نشان دادند که شایع‌ترین گروه‌های فیلوژنتیک در جنوب ایران به ترتیب D، A و B1 با فراوانی ۷۰٪، ۲۳/۳٪ و ۶/۷٪ می‌باشد. همچنین در مطالعه یاد شده گروه B2 یافت نشد (۱۹). شاید بتوان یکی از دلایل این عدم مطابقت را به تفاوت توزیع سویه ها در مناطق جغرافیایی مختلف دانست. همچنین گروه فیلوژنتیک B1 در بین سویه‌های مورد مطالعه ما یافت نشد که از این نظر با نتایج به دست آمده در پژوهش گراد (Grude) و همکاران در سال ۲۰۰۷ در روسیه هم‌خوانی دارد (۲۰).

به منظور تعیین ارتباط مقاومت دارویی با گروه‌های فیلوژنتیک، میزان توزیع سویه‌های مقاوم به دارو در گروه‌های مختلف فیلوژنتیک مورد بررسی قرار گرفت. در مورد سویه‌های مقاوم به یک آنتی‌بیوتیک و نیز سویه‌های MDR بار دیگر گروه B2 به عنوان گروه فیلوژنتیک غالب شناخته شد. تنها استثنا مربوط به آنتی‌بیوتیک نیتروفورانتوئین بود که سویه‌های مقاوم به این دارو به نسبت مساوی در گروه‌های B2 و D توزیع شده بودند. همچنین ۶۶/۶۶٪ سویه‌هایی که به همه داروها حساس بودند در گروه A جای گرفتند. این نتایج با مطالعه انجام شده توسط پیاتی (Piatti) و همکاران از نظر غالب بودن گروه فیلوژنتیک B2 در سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک هم‌خوانی دارد (۱۶). اما با سایر بررسی‌های انجام شده از نظر نوع گروه غالب فیلوژنتیک در سویه‌های حساس و مقاوم به دارو مطابقت ندارد (۱، ۲۱ و ۲۲).

یکی از دلایل این اختلافات این است که اکثر مطالعات انجام شده مربوط به کشورهای اروپایی با مصرف آنتی‌بیوتیک کم‌تر و در نتیجه میزان مقاومت کم‌تر بوده است. از طرف دیگر توزیع سویه‌های مقاوم به دارو در مناطق جغرافیایی مختلف، متفاوت است و وابستگی به الگوی مصرف در این کشورها دارد. همچنین تعداد سویه‌های مورد بررسی در مقالات یاد شده نسبت به مطالعه حاضر بسیار کم‌تر بوده و تنها آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند گروه کینولون‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته است. نوع نمونه مورد بررسی نیز می‌تواند یکی از دلایل دیگر این اختلافات باشد. به طوری که در پژوهش جاری سویه‌های جدا شده از ادرار و در سایر مطالعات به عنوان نمونه سویه‌های جدا شده از عفونت زخم (۲۱) مورد ارزیابی قرار گرفته است. این امر می‌تواند تفاوت گروه فیلوژنتیک را نیز به دنبال داشته باشد به طوری که با افزایش الگوی مقاومت دارویی، تغییر از گروه فیلوژنتیک B2 به سمت گروه A مشاهده شده است. از آن‌جایی که در مطالعات انجام شده در کشور ما گزارش‌های محدودی در ارتباط با فیلوژنتیک تایپینگ وجود دارد، لذا امکان مقایسه سویه‌های جداسازی شده در مطالعه حاضر با سویه‌های بومی به طور کامل وجود ندارد. به نظر می‌رسد که آنالیز مجموعه سویه‌های *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت‌های ادراری و نیز سایر عفونت‌های خارج روده‌ای به ویژه در مناطق مختلف جغرافیایی کشور بتواند اطلاعات مفیدی در زمینه اپیدمیولوژی گروه‌های فیلوژنتیک و توزیع سویه‌های مقاوم به دارو را در اختیار قرار دهد. به طوری که با استناد به آن‌ها و به کمک اصلاح روش‌های درمانی موجود و نیز آموزش‌های لازم در زمینه استفاده صحیح از آنتی‌بیوتیک‌ها بتوان مانع از انتشار سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در جامعه شد.

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که سویه‌های مقاوم به یک آنتی‌بیوتیک و نیز سویه‌های MDR مانند سایر مناطق دنیا

متعلق به گروه B2 می‌باشند. آنالیزمجموعه سویه‌های *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت‌های ادراری و نیز سایر عفونت‌های خارج روده‌ای به ویژه در مناطق مختلف جغرافیایی کشور می‌تواند اطلاعات مفیدی در زمینه اپیدمیولوژی گروه‌های فیلوژنتیک و توزیع سویه‌های مقاوم به دارو در اختیار محققین قرار دهد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از پرسنل آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، بیمارستان شهید هاشمی‌نژاد و نیز مسئولین محترم آزمایشگاه تحقیقاتی سلولی و مولکولی دانشگاه تهران به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Ejrnaes K. Bacterial characteristics of importance for recurrent urinary tract infections caused by *Escherichia coli*. Dan Med Bull. 2011; 58(4): B4187.
2. Borsari AG, Bucher B, Brazzola P, Simonetti GD, Dolina M, Bianchetti MG. Susceptibility of *Escherichia coli* strains isolated from outpatient chidren with community-acquired urinary tract infection in southern Switzerland. Clin Ther. 2008; 30(11): 2090-2095.
3. Bonacorsi SPP, Clermont O, Tinsley C, Le Gall I, Beaudoin JC, Elion J, Nassif X, Bingen E. Identification of regions of the *Escherichia coli* chromosome specific for neonatal meningitis-associated strains. Infect Immun. 2000; 68(4): 2096-2101.
4. Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. Appl Environ Microbiol. 2000; 66(10): 4555-4558.
5. Blattner FR, Plunkett G I, Bloch CA, Perna NT, Burland V, Riley M, Collado-Vides J, Glasner JD, Rode CK, Mayew GF, Gregor J, Davis NW, Kirkpatrick HA, Goeden MA, Rose DJ, Mau B, Shao Y. The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. Science. 1997; 277(5331): 1453-1461.
6. Mills M, Payne SM. Genetics and regulation of haem iron transport in *Shigella dysenteriae* and detection of an analogous system in *Escherichia coli* O157:H7. J Bacteriol. 1995. 177(11): 3004-3009.
7. Torres AG, Payne S. Haem iron-transport system in enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. Mol Microbiol. 1997; 23(4): 825–833.
8. Johnson JR, Kuskowski MA, Gajewski A, Soto S, Horcajada JP, Jimenez de Anta M T, Vila J. Extended virulence genotypes and phylogenetic background of *Escherichia coli* isolates from patients with cystitis, pyelonephritis, or prostatitis. J Infect Dis. 2005; 191: 46-50.
9. Takahashi A, Kanamaru S, Kurazono H, Kunishima Y, Tsukamoto T, Ogawa O, Yamamoto S. *Escherichia coli* isolates associated with uncomplicated and complicated cystitis and asymptomatic bacteriuria possess similar phylogenies, virulence genes, and O-serogroup profiles. J Clin Microbiol. 2006; 4(12): 4589-4592.
10. Sader HS. Antimicrobial activity of tetracycline tested against nosocomial bacterial pathogens from patients hospitalized in the intensive care unit. Diagn Microbial Infect Dis. 2005; 52(3): 203-208.
11. Tamberkar DH, Dhanorkar DV, Gulhane SR, Khandelwal VK, Dudhane MN. Antibacterial susceptibility of some urinary tract pathogens to commonly used antibiotics. Afr J Biotechnol. 2006; 5(17): 1562-1565.
12. Tankhiwale SS, Jalgaonkar VS, Atimad S, Hassani U. Evaluation of extended spectrum of beta lactamase in urinary isolates. Ind Med Res. 2004; 120(6): 553-556.

13. Andrade SS, Sader HS, Jones RN, Pereira AS, Pignatari AC, Gales AC. Increased resistance to first-line agents among bacterial pathogens isolated from urinary tract infections in Latin America: time for local guidelines? Mem Inst Oswaldo Cruze. 2006; 101(7): 741-748.
14. Borsari A G, Bucher B, Brazzola P, Simonetti G D, Dolina M, Bianchetti M G. Susceptibility of *Escherichia coli* strains isolated from outpatient chidren with community-acquired urinary tract infection in southern Switzerland. Clinical Therapeutics. 2008; 30(11): 2090-2095.
15. Rijavec M, Muller-Premru M, Zakotnik B, Zgur-Bertok D. Virulence factors and biofilm production among *Escherichia coli* strains causing bacteraemia of urinary tract origin. J Med Microbiol. 2008; 57(11): 1329-1334.
16. Piatti G, Mannini A, Balistreri M, Schito AM. Virelence factors in urinary *Escherichia coli* strains: phylogenetic background and Quinolone and Fluoroquinolone resistance. J Clin Microbiol. 2008; 46(2): 480-487.
17. Johnson JR, Kuskowski MA, Owens K, Gajewski A, Winokur PL. Phylogenetic origin and virulence genotype in relation to resistance to fluoroquinolones and/or extended-spectrum cephalosporins and cephamycins among *Escherichia coli* isolates from animals and humans. J Infect Dis. 2003; 188(5): 759-768.
18. Moreno E, Prats G, Sabate M, Perez T, Johnson JR, Andreu A. Quinolone, fluoroquinolone and trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in relation to virulence determinants and phylogenetic background among uropathogenic *Escherichia coli*. J. Antimicrob Chemother. 2006; 57(2): 204–211.
19. Asadi A, Solhjoo K, Kargar M, Rezaeian AA. Phylogenetic groups of *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infection in Jahrom city, southern Iran. Journal of Microbial World. 2011; 3(4): 240-245 [In Persian].
20. Grude N, Potaturkina-Nesterova N I, Jenkins A. A comparison of phylogenetic group, virulence factors and antibiotic resistance in Russian and Norwegian isolates of *Escherichia coli* from urinary tract infection. Clin Microbiol Infect. 2007; 13(2): 208-211.
21. Saeed MA, Haque A, Ali A, Mohsin M, Bashir S, Tariq A, Afzal A, Iftikhar T, Sarwar Y. Relationship of drug resistance to phylogenetic groups of *E. coli* isolates from wound infections. Infect Dev Ctries. 2009; 3(9): 667-670.
22. Johnson JR. Microbial virulence determinants and the pathogenesis of urinary tract infection. Infect Dis Clin North Am. 2003; 17(2): 261-78.

Journal Of Microbial World
Vol 4, No 3 & 4, January 2012

Original Article

Evaluation of relationship between phylogenetic typing and antibiotic resistance of uropathogenic *Escherichia coli*

Zahra Etebarzadeh[1], Mojgan Oshaghi[2], Noor Amir Mozafari[2]

[1]M.Sc., Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[2]Assistant Professor, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
[3]Asociate Professor, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: Urinary tract infections (UTI) are among the most common infectious diseases. Nowadays, *Escherichia coli* (*E. coli*) is counted as the predominant cause of urinary tract infection in 80-90% of patients. Due to increase in the rate of antibiotic usage and subsequent drug resistance, this study was performed to evaluate the antimicrobial resistance pattern of *E. coli* isolated from patients with suspected urinary tract infection and phylogenetic grouping of these strains.

Materials and Methods: This cross sectional study was conducted on 600 samples of suspected urinary tract infection from Hasheminejad super specialty kidney hospital. To isolate *E. coli* strains, all samples were examined with biochemical and microbial tests. Then using the standard disc diffusion method (Kirby-Bauer), drug susceptibility test was performed on 8 different antibiotics. Multiplex PCR technique and specific primers of *chuA*, *yjaA* genes and TSPE4.C2 fragment were used for phylogenetic grouping of the isolated *E. coli* strains.

Results: In this study the highest rates of resistance to antibiotics were seen against ampicillin (83.83%) and nalidixic acid (71.42%). Also, the lowest rates of resistance were reported against nitrofurantoin (3.12%) and ceftizoxime (11.22%). Based on phylogenetic studies, 65%, 19% and 16% of the isolated strains belonged to group B2, group D and group A, respectively. Also, the majority of antibiotic resistant strains and multi-drug resistant strains belonged to the phylogenetic group B2.

Conclusion: As same as other reports around the world, most of the *E. coli* strains isolated from this region belonged to phylogenetic group B2.

Keywords: *E. coli*, Phylotyping, Antibiotic resistance, UTI

Correspondence to: Zahra Etebarzadeh
E-mail: zahra_etebarzadeh@yahoo.com
Tel: +989166134473
Journal of Microbial World, 2012, 4 (3&4): 84-92.