بررسی تنوع فیلوژنتیکی ایزوله‌های کلینیکی اشرشیاکلی به‌دست آمده از بیماران بستری

امید پژند [۱و۲](Ph.D)، خاطره قاسمی [۲](M.Sc)، فاطمه کمالی [۲](M.Sc)، سحر تقوی‌پور [۲](M.Sc)، زویا هژبری [۱*](Ph.D)

۱- *دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران*

۲- *کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران*

چکیده

هدف: اشرشیاکلی به عنوان یکی از اصلی‌ترین عوامل عفونت در محیط‌های بیمارستانی می‌تواند به چندین گروه فیلوژنتیکی که این گروه‌ها از لحاظ ویرولانس، سرعت رشد و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی با یک‌دیگر متفاوت هستند، تقسیم شود. این مطالعه با هدف تعیین گروه‌های فیلوژنتیکی سویه‌های اشرشیاکلی به منظور درک ارتباط میان فیلوگروه‌ها و الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های اشرشیاکلی به‌دست آمده از بیماران بستری به انجام رسید.

مواد و روش‌ها: تعداد ۲۱۶ ایزوله اشرشیاکلی به‌دست آمده از بیماران بستری در بیمارستان آموزشی کوثر شهر سمنان با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز چهارگانه به منظور آنالیز فیلوژنتیکی مورد بررسی قرار گرفتند. هم‌چنین حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با استفاده از روش انتشار آنتی‌بیوتیک در آگار برای همه ایزوله‌ها تعیین شد.

یافته‌ها: فیلوگروه B2 به عنوان شایع‌ترین فیلوگروه (۳۸/۴٪) و در مراتب بعدی، فیلوگروه‌های A (۱۴/۸٪)، F (۱۳/۴٪)، D (۹/۳٪)، B1 (۸/۸٪)، هر یک از فیلوگروه‌های C و E (۴/۶٪)، ناشناخته (۴/۲٪) و clade I (۱/۹٪) فراوان‌ترین فیلوگروه‌ها بودند. در حدود ۷۰/۴٪ از ایزوله‌ها جزو سویه‌های مقاوم به چندین دارو بودند. نتایج آنتی‌بیوگرام نشان داد که آنتی‌بیوتیک‌های مروپنم و تری‌متوپریم/سولفومتوکسازول به‌ترتیب موثرترین و کم‌اثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها با میزان حساسیت به‌ترتیب (۹۴/۴٪ و ۲۷/۸٪) بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج ما نشان داد که تعداد زیادی از ایزوله‌های مقاوم به چند دارو جزو فیلوگروه B2 هستند که این امر حاکی از آن است که این فیلوگروه نه تنها می‌تواند به عنوان یک فیلوگروه ویرولان مطرح شود بلکه می‌تواند به عنوان مخزن ژنتیکی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: اشرشیاکلی، گروه‌های فیلوژنتیک، مقاومت باکتری به دارو

مقدمه

باکتری اشرشیاکلی به عنوان فراوانترین باکتری بی‌هوازی اختیاری کلونیزه‌کننده دستگاه گوارش انسان می‌تواند باعث ایجاد عفونت دستگاه ادراری، باکتریمی، عفونت داخل شکمی، مننژیت، پنومونی و استئومیلیت شود [۱]. بررسی‌های فیلوژنتیکی بر روی این باکتری نشان دادند که می‌توان ایزوله‌های این باکتری را بر اساس حضور ژن‌های chuA, yjaA و TspE4.C2 به چهار فیلوگروه اصلی تقسیم نمود که شامل A، B1، B2 و D می‌باشد [۲]. این فیلوگروه‌ها از نظر خصوصیات زیست محیطی، سرعت رشد، توانایی متفاوت در

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۲۴۳۴۳۳۷

Email: hojabriz@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۱۴

استفاده از قندها، و الگوی مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها از یک‌دیگر متمایز هستند [۴،۳]. به علاوه به علت وجود تشابهات بیش‌تر بین فیلوگروه‌های B2 و D و هم‌چنین A و B1، این گروه‌ها به عنوان گروه‌های خواهری شناخته می‌شوند [۵]. در سال ۲۰۱۳، Clermont و همکارانش با استفاده از اضافه کردن ژن arpA به سه ژن قبلی دیگر به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز سه گانه به منظور تعیین فیلوگروه‌های بیش‌تر شامل C، E، F و Clade I را راه‌اندازی کردند [۶]. در مطالعات مختلف نشان داده شده است که شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌هایی غیر از فیلوگروه B2 نسبت به سایر فیلوگروه‌ها بیش‌تر است. هم‌چنین گزارشات متعدد حاکی از آن است که ایزوله‌های ویرولان خارج روده‌ای اشرشیاکلی بیش‌تر به فیلوگروه‌های B2 و D تعلق دارند در حالی‌که ایزوله‌های کومنسال متعلق به فیلوگروه‌های A و B1 می‌باشند [۸،۷]. با توجه به گسترش روزافزون و وجود تفاوت در الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین فیلوگروه‌ها و فقدان گزارش در مورد این امر در شهر سمنان هدف ما از انجام این مطالعه تعیین فیلوگروه‌های مختلف اشرشیاکلی با استفاده از آخرین روش پیشنهاد شده توسط Clermont و همکارانش در بین گروه‌های مختلف ایزوله‌ها از نظر الگوی آنتی‌بیوگرام می‌باشد تا از این طریق درک بهتری در مورد منشا عفونت‌ها و هم‌چنین کنترل موثر آن‌ها به‌دست آید.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری ایزوله‌های بالینی و شناسایی آن‌ها. نمونه‌گیری از بیماران بستری در بیمارستان کوثر وابسته به دانشگاه علوم پزشکی سمنان از اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۳ آغاز و تا آبان ماه همان سال ادامه پیدا کرد. در مجموع تعداد ۲۱۶ ایزوله اشرشیاکلی که با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی مورد شناسایی قرار گرفته بودند، از بیماران بستری در بیمارستان به‌دست آمد که از این تعداد ۱۷۹ مورد مبتلا به عفونت مجاری ادراری، ۲۲ مورد مبتلا به پنومونی و ۱۵ مورد مبتلا به عفونت زخم بودند. تشخیص نوع عفونت با توجه به با استفاده از پرسش‌نامه تهیه شده برای این مطالعه و پرونده بیماران و علایم بیمار و تشخیص پزشک معالج و به همراه نتایج آزمایشگاهی انجام شد. در میان انواع عفونت‌های دستگاه تنفسی تحتانی، تشخیص پزشک غالباً پنومونی بوده است که با توجه سن بیماران، مدت زمان بستری و استفاده از جسم خارجی به منظور بهبود یا کنترل تنفس بیماران بیش‌تر از چهار روز، جز موارد health care associated pneumonia late onset طبقه‌بندی می‌شوند [۹]. تعداد ۱۴۲ نفر از بیماران مونث و ۷۴ نفر از آن‌ها مذکر بودند. میانگین سن بیماران ۱۹،۳±۶۶،۰۵ سال بود. به منظور تایید مجدد ایزوله‌ها از نظر هویت آن‌ها تست‌های بیوشیمیایی روتین مانند تست اکسیداز، استفاده از سیترات، بررسی حرکت، تخمیر سوکروز و گلوکز، تولید اندول، تولید سولفید هیدروژن، هیدرولیز اوره،تست متیل رد و تست Voges-Proskauer مورد استفاده قرار گرفتند و ایزوله‌های اشرشیاکلی تایید شدند [۱۰].

تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی. تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی بر روی ایزوله‌های اشرشیاکلی به‌دست آمده با استفاده از روش انتشار دیسک در مولرهینتون آگار (Merck, Germany) برای آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم (۱۰µg)، مروپنم (۱۰µg)، ارتاپنم (۱۰µg)، سفتازیدیم (۳۰µg)، سفپیم (۳۰µg)، سفوتاکسیم (۳۰µg)، پیپراسیلین/تازوباکتام، آمپی‌سیلین/سولباکتام، آزترونام (۱۰µg)، آموکسی‌سیلین/کلاوولانیک اسید (۸۷۵/۱۲۵ µg)، تری‌متوپریم/سولفومتوکسازول (۲۳/۷۵+۱/۷۵ µg)، لووفلوکسازین (۵µg)، سیپروفلوکسازین (۱۰µg)، آمیکاسین (۱۰µg)، جنتامیسین (۱۰µg)، توبرامایسین (۱۰µg)، (Rosco, Denmark) انجام شد. به صورت مختصر سوسپانسیون باکتری معادل نیم مک فارلند بر روی محیط مولر هینتون آگار به صورت چمنی کشت داده شده و دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی بر روی آن قرار داده شده و در انکوباتور به مدت ۱۸-۲۴ ساعت انکوبه می‌شوند. پس از انکوباسیون قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شده و با مقادیر پیشنهاد شده توسط Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) مقایسه

و مورد تفسیر قرار گرفت. هم‌چنین به منظور کنترل کیفی دیسک‌ها از سویه باکتری اشرشیاکلی ATCC 25922 استفاده شد [۱۱].

تعیین گروه‌های فیلوژنتیکی ایزوله‌ها. در ابتدا استخراج DNAبا استفاده از روش ستیل تری‌متیل آمونیوم بروماید (CTAB)بر اساس پروتکل‌های موجود انجام شد [۱۲]. سپس با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) و با استفاده از پرایمرهای مورد استفاده توسط Clermont و همکارانش فیلوگروه‌های A، B1، B2، C، D، E، F، Clade I و Unknown (ناشناخته) مورد شناسایی قرار گرفتند [۶].

آنالیز آماری. آنالیز آماری با استفاده از تست کای اسکوئر یا در موارد لزوم تست دقیق فیشر انجام شد. p-۰/۰۵ value< به عنوان معیار معنی‌دار بودن تست‌های آماری در نظر گرفته شد.

نتایج

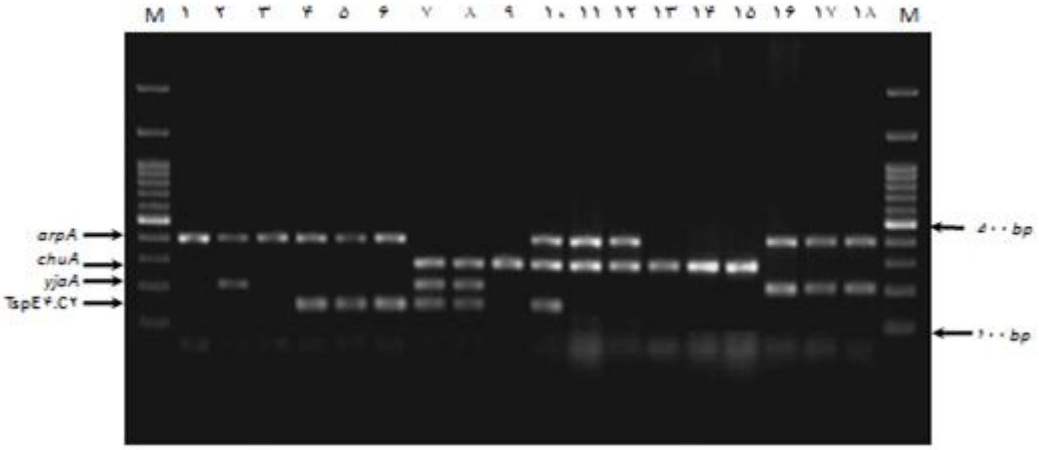
ایزوله‌هایی که الگوی اسید/اسید بر روی محیط TSI، سیترات منفی، اندول مثبت، دارای حرکت، اوره منفی، متیل رد مثبت و تست Voges-Proskauer منفی نشان دادند، به عنوان سویه اشرشیاکلی مورد تایید قرار گرفته و وارد مطالعه گردیدند. با توجه به جدول ۱ که نتایج تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی را نشان می‌دهد، مروپنم (۹۴/۴٪)، ایمی‌پنم (۹۲/۱٪) و آمیکاسین (۸۷/۵٪) به‌ترتیب بیش‌ترین میزان حساسیت و تری‌متوپریم/سولفومتوکسازول (۲۷/۸٪) کم‌ترین میزان حساسیت را نشان دادند (جدول۱). هم‌چنین ۱۵۲ ایزوله از تعداد ۲۱۶ (۷۰/۴٪) ایزوله جزو سویه‌های مقاوم به چند دارو (MDR) قرار گرفتند که به این معناست که حداقل به یک آنتی‌بیوتیک در سه کلاس از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان دادند. نتایج تست PCR نشان داد که از نظر فیلوژنتیکی بیش‌ترین فراوانی متعلق به فیلوگروه B2 (۸۳ مورد، ۳۸/۴٪) و پس از آن به‌ترتیب A (۳۲ مورد، ۱۴/۸٪)، F (۲۹ مورد، ۱۳/۴٪)، D (۲۰ مورد، ۹/۳٪)، B1 (۱۹ مورد، ۸/۸٪)، C و E (هر یک ۱۰ مورد، ۴/۶٪)، Unknwon (۹ مورد، ۴/۲٪) و Clade I (۴ مورد، ۱/۹٪) دارای بیش‌ترین فراوانی بودند. جدول ۲ توزیع ایزوله‌های غیر حساس به هر یک از آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده را در بین فیلوگروه‌های مختلف نشان می‌دهد. منظور از ایزوله‌های غیر حساس مجموع ایزوله‌های مقاوم و ایزوله‌های بینابینی در تست آنتی‌بیوگرام می‌باشد. این جدول نشان می‌دهد که غیرحساس‌ترین ایزوله‌ها نسبت به همه آنتی‌بیوتیک‌ها در فیلوگروه B2 قرار گرفته به‌جز آنتی‌بیوتیک‌های مروپنم و ارتاپنم که فیلوگروه F در این دو آنتی‌بیوتیک دارای بیش‌ترین تعداد ایزوله‌های غیر حساس می‌باشد (جدول ۲). هم‌چنین بین فیلوگروه‌ها با مقاومت به ارتاپنم، سفتازیدیم، آمپی‌سیلین/سولباکتام، لووفلوکساسین، آزترونام، تری‌متوپریم/سولفومتوکسازول، سفپیم، توبرامایسین و سفوتاکسیم ارتباط معنادار (P value<۰/۰۵) مشاهده شد.

جدول ۱. میزان حساسیت آنتی بیوتیکهای مختلف

آنتی بیوتیک	تعداد موارد حساس(٪)
ایمیپنم	۱۹۹ (۹۲/۱)
مروپنم	۲۰۴ (۹۴/۱)
ارتاپنم	۱۶۹ (۸۷/۲)
سفتازیدیم	۸۷ (۴۰/۳)
سفوتاکسیم	۶۶ (۳۰/۵)
سفپیم	۱۲۵ (۵۷/۹)
آمپی سیلین/سولباکتام	۱۲۳ (۵۶/۷)
پیپراسیلین/تازوباکتام	۱۵۴ (۷۱/۳)
آموکسی سیلین/کلاوولانیک اسید	۷۲ (۳۳/۳)
آزترونام	۷۵ (۳۴/۷)
تری متوپریم/سولفومتوکسازو ل	۶۰ (۷۲/۸)
آمیکاسین	۱۸۹ (۸۷/۵)
جنتامیسین	۱۵۱ (۷۰)
توبرامایسین	۱۳۱ (۶۰/۶)
سیپروفلوکساسین	۷۸ (۳۶/۱)
لووفلوکساسین	۸۳ (۳۸/۴)

جدول ۲. فراوانی ایزوله‌های غیر حساس اشرشیاکلی در بین فیلوگروه‌های مختلف

آنتی بیوتیک (تعداد ایزوله های غیر حساس)	A(۳۲)	B1(۱۹)	B2(۸۳)	C(۱۰)	D(۲۰)	E(۱۰)	F(۲۹)	Clade I/II(۴)	Unknown(۹)
ایمیپنم (۱۷)	۳	۳	۵	۰	۱	۰	۵	۰	۰
مروپنم (۱۲)	۳	۲	۲	۰	۰	۱	۴	۰	۰
ارتاپنم (۴۶)	۷	۶	۹	۰	۵	۲	۱۴	۰	۳
سفتازیدیم (۱۲۹)	۱۱	۶	۵۱	۷	۱۳	۹	۲۳	۲	۷
سفوتاکسیم (۱۵۰)	۱۷	۷	۶۱	۷	۱۳	۹	۲۶	۲	۸
سفپیم (۹۱)	۸	۱	۳۵	۴	۹	۷	۲۱	۲	۴
آمپی سیلین/سولباکتام (۹۳)	۱۱	۶	۳۰	۳	۷	۷	۲۲	۱	۶
پیپراسیلین/تازوباکتام (۶۲)	۹	۴	۱۷	۳	۶	۵	۱۵	۱	۲
آموکسی سیلین/کلاوولانیک اسید (۱۴۴)	۱۸	۱۳	۵۳	۶	۱۱	۹	۲۵	۲	۷
آزترونام (۱۴۱)	۱۴	۶	۵۸	۷	۱۳	۹	۲۴	۲	۸
تری متوپریم/سولفومتوکسازول (۱۵۶)	۲۲	۱۶	۵۲	۳	۱۸	۸	۲۸	۳	۶
آمیکاسین (۲۷)	۳	۰	۱۰	۱	۵	۱	۶	۰	۱
جنتامیسین (۶۵)	۱۰	۳	۲۶	۲	۸	۶	۸	۱	۱
توبرامایسین (۸۵)	۸	۲	۳۲	۴	۱۰	۷	۱۸	۱	۳
سیپروفلوکساسین (۱۳۸)	۱۷	۹	۵۶	۵	۱۰	۸	۲۵	۳	۵
لووفلوکساسین (۱۳۳)	۱۵	۹	۵۶	۵	۹	۷	۲۵	۲	۵



شکل ۱. فیلو گروه‌های مختلف اشرشیاکلی، M: سایز مارکر ۱۰۰ جفت بازی، چاهک ۱ و ۳، فیلوگروه A; چاهک ۴، ۵، و ۶، فیلوگروه B1 ; چاهک ۷ و ۸، فیلوگروه B2 ; چاهک ۱۰، ۱۱ و ۱۲، فیلوگروه E یا C; چاهک ۹، ۱۳، ۱۴ و ۱۵، فیلوگروه F، چاهک ۲، ۱۶، ۱۷ و ۱۸، فیلوگروه A یا C

بحث و نتیجه‌گیری

از آن‌جا که گروه‌های فیلوژنتیکی اشرشیاکلی از نظر بسیاری از خصوصیات و مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف و تمایل برای ایجاد بیماری‌های مختلف در بین این فیلوگروه‌ها که از نقاط مختلف جغرافیایی به‌دست می‌آیند، متفاوت است، در این مطالعه در صدد بودیم که گروه‌های مختلف فیلوژنتیکی این باکتری را در الگوهای متفاوت از نظر مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در منطقه‌ای که تا به‌حال گزارشی از آن به چاپ نرسیده است را بررسی کنیم. در رابطه با مقاومت آنتی‌بیوتیکی، نتایج مطالعه ما با نتایج مطالعه دیگری از ایران هم‌خوانی داشت چرا که در مطالعه مذکور موثرترین آنتی‌بیوتیک مروپنم بود و هم‌چنین میزان حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون‌ها و تری‌متوپریم/سولفومتوکسازول کم بود [۱۴،۱۳]. در مطالعه

حاضر شایع‌ترین فیلوگروه متعلق به فیلوگروه B2 و A بود. این نتایج با نتایج به‌دست آمده از چندین مطالعه هم‌خوانی دارد [۱۵-۱۷]. اما در دو مطالعه دیگر از که در فرانسه و چین انجام شدند علاوه بر B2 فیلوگروه A از شایع‌ترین فیلوگروه‌ها در نمونه‌های به‌دست آمده از عفونت مجاری ادراری بودند [۱۹،۱۸]. هم‌چنین در مطالعه ما مشاهده شد که حدود نیمی از سویه‌های مقاوم به چند دارو (۶۳ از ۱۵۲ مورد، ۴۱/۴٪) در فیلوگروه B2 قرار گرفتند. هنگامی که ارتباط بین گروه‌های فیلوژنتیکی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی را مورد بررسی قرار دادیم، دریافتیم که ایزوله‌هایی که متعلق به گروه B2 وF هستند بیش‌تر با مقاومت به چند دارو (Multiple drug resistant) نسبت به سایر فیلوگروه‌ها ارتباط دارند. اگرچه مطالعات گذشته نشان دادند که سویه‌هایی که در فیلوگروه B2 قرار می‌گیرند، قدرت بیماری‌زایی بیش‌تر و در عین حال مقاومت آنتی‌بیوتیکی کم‌تری دارند اما نتایج مطالعه دیگری نشان داد که فیلوگروه D مقاومت بالا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها دارند. در مطالعه دیگری مقاومت آنتی‌بیوتیکی در فیلوگروه‌های B2 و D شایع‌تر بود و نتایج مطالعه نشان داد که این مقاومت بیش‌تر در فیلوگروه A دیده شد. نتایج مطالعات گذشته نشان می‌دهد که ایزوله‌های کومنسال بیش‌تر به فیلوگروه‌های A و B1 تعلق دارند در حالی‌که ایزوله‌هایی که باعث عفونت‌های خارج روده‌ای می‌گردند، غالباً از نوع B2 و D می‌باشند. فیلوگروه‌های B2 و D بیش‌تر از محیط جدا شده و ایزوله‌های اشرشیاکلی که از بیماری‌های خارج روده‌ای جدا می‌شوند، بیش‌تر به این دو گروه تعلق دارند [۲۱،۲۰] علی‌رغم این‌که دو گروه فیلوژنتیکی B2 و D خاصیت بیماری‌زایی بیش‌تری دارند، و گزارشات متعددی نشان داده‌اند که ایزوله‌های کومنسال اشرشیاکلی به گروه‌های A و D تعلق دارند. اما گزارشاتی مبنی بر غالب بودن فیلوگروه A در بین ایزوله‌های ادراری وجود دارد [۲۰]. در مطالعه دیگری که بر روی ایزوله‌های اشرشیاکلی جدا شده از خون انجام شد، فیلوگروه‌های B2 و D به عنوان شایع‌ترین فیلوگروهی که بیش‌ترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها را نشان می‌دهد، مطرح شدند [۲۲]. تفاوت در شیوع و توزیع فیلوگروه‌های مختلف می‌تواند تحت تاثیر نواحی جغرافیایی متفاوت، وضعیت متفاوت میزبان از نظر وضعیت سلامتی، تغذیه متفاوت، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف، فاکتورهای ژنتیکی میزبان، و ناحیه‌ای که از آن نمونه‌گیری به‌عمل می‌آید، قرار گیرد [۲۳]. از محدویت‌های این مطالعه عدم بررسی فاکتورهای ویرولانس و عدم بررسی فراوانی ژن‌های مقاومت در این ایزوله‌ها همگام با بررسی فیلوژنتیک می‌باشد که در مطالعات آتی انجام خواهد شد.

با توجه به حساسیت کاهش یافته ایزوله‌های اشرشیاکلی نسبت به فلوروکینولون‌ها و تری‌متوپریم-سولفومتوکسازول، استفاده از این آنتی‌بیوتیک‌ها به‌خصوص در درمان عفونت‌های ادراری می‌بایست با احتیاط بیش‌تری صورت پذیرد. هم‌چنین اگرچه انتظار می‌رود که کاهش ویرولانس در یک فیلوگروه با افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها جبران گردد [۲۴] اما نتایج مطالعه ما مطابق با این یافته نمی‌باشد و در فیلوگروه B2 که به عنوان فیلوگروه دارای ویرولانس بیش‌تر شناسایی شده، بیش‌ترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی را نیز نشان داد.

تشکر و قدردانی

از کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی سمنان بابت همکاری وتامین تسهیلات لازم برای انجام این تحقیق تقدیر و تشکر می‌شود. این مطالعه تحت عنوان طرح تحقیقاتی مصوب کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی سمنان به شماره ۸۴۵ به ثبت رسیده است.

منابع

[1] Dobrindt U. (Patho-) genomics of Escherichia coli. Intern J Med Microb 2005; 295: 357-371.

[2] Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the Escherichia coli phylogenetic group. Appl Environ Microb 2000; 66: 4555-4558.

[3] Carlos C, Pires MM, Stoppe NC, Hachich EM, Sato MI, Gomes TA, et al. Escherichia coli phylogenetic group determination and its application in the identification of the major animal source of fecal contamination. BMC Microb 2010; 10: 1.

[4] Gordon DM. The influence of ecological factors on the distribution and the genetic structure of escherichia coli. EcoSal Plus 2004; 1.

[5] Lecointre G, Rachdi L, Darlu P, Denamur E. Escherichia coli molecular phylogeny using the incongruence length difference test. Mol Biol Evolu 1998; 15: 1685-1695.

[6] Clermont O, Christenson JK, Denamur E, Gordon DM. The Clermont Escherichia coli phylo- typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo- groups. Environ Microbiol Rep 2013; 5: 58-65.

[7] Ghenghesh KS, Elkateb E, Berbash N, Nada RA, Ahmed SF, Rahouma A, et al. Uropathogens from diabetic patients in Libya: virulence factors and phylogenetic groups of Escherichia coli isolates. J Med Microbiol 2009; 58: 1006-1014.

[8] Johnson JR, Kuskowski MA, O'bryan TT, Colodner R, Raz R. Virulence genotype and phylogenetic origin in relation to antibiotic resistance profile among Escherichia coli urine sample isolates from Israeli women with acute uncomplicated cystitis. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 26-31.

[9] Zarinfar N, sharafkhah M, Amiri M, Rafeie M. Probiotic effects in prevention from ventilator-associated pneumonia. Koomesh 2016; 17: 803-813. (Persian).

[10] Koshi M. Methods in biochemical identification of bacteria. In Myer's and Koshi'sManual of Diagnostic Procedures in Medical Microbiology and Immunology/Serology: Department of Clinical Microbiology, Christian Medical College; 2001; 95-202.

[11] Wayne P. CLSI Performance standard of Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-fourth International Supplement. CLSI Document M100-S24 Clinical and Laboratory Standard Institute. 2014.

[12] Hojabri Z, Rezaee M, Nahaei MR, Davodi M, Satarzadeh Tabrizi M, Ghazi M, et al. Comparison of in vitro activity of Doripenem versus old carbapenems against Pseudomonas aeruginosa clinical isolates from both CF and burn patients. Advan Pharm Bul 2013; 3: 121-125.

[13] Iranpour D, Hassanpour M, Ansari H, Tajbakhsh S, Khamisipour G, Najafi A. Phylogenetic Groups of Escherichia coli Strains from patients with urinary tract infection in iran based on the new clermont phylotyping method. BioMed Res Intern 2015; http://dx.doi.org/10.1155/2015/846219

[14] Rahimi M, Tajbakhsh M, Razaghi M, Tajeddin E, Alebouyeh M, Rajabi Bazl M, Zali M. Frequency of β-lactamase producing isolates of Escherichia coli and their diversity in enzyme activitiesamong the resistance isolates from patients with diarrhea and nosocomial infections in Tehran. Iran. Koomesh 2014; 15: 197-205. (Persian).

[15] Bashir S, Haque A, Sarwar Y, Ali A, Anwar MI. Virulence profile of different phylogenetic groups of locally isolated community acquired uropathogenic E. coli from Faisalabad region of Pakistan. Annals Clin Microbiol Antimicrob 2012; 11: 1.

[16] Bingen-Bidois M, Clermont O, Bonacorsi S, Terki M, Brahimi N, Loukil C, et al. Phylogenetic analysis and prevalence of urosepsis strains of Escherichia coli bearing pathogenicity island-like domains. Infect Immun 2002; 70: 3216-3226.

[17] Smati M, Clermont O, Le Gal F, Schichmanoff O, Jauréguy F, Eddi A, et al. Real-Time PCR for quantitative analysis of human commensal Escherichia coli populations reveals a high frequency of subdominant phylogroups. Appl Environ Microbiol 2013; 79: 5005-5012.

[18] Dubois D, Delmas J, Cady A, Robin F, Sivignon A, Oswald E, et al. Cyclomodulins in urosepsis strains of Escherichia coli. J Clin Microbiol 2010; 48: 2122-2129.

[19] Luo Y, Ma Y, Zhao Q, Wang L, Guo L, Ye L, et al. Similarity and divergence of phylogenies, antimicrobial susceptibilities, and virulence factor profiles of Escherichia coli isolates causing recurrent urinary tract infections that persist or result from reinfection. J Clin Microbiol 2012; 50: 4002-4007.

[20] Adib N, Ghanbarpour R, Solatzadeh H, Alizade H. Antibiotic resistance profile and virulence genes of uropathogenic Escherichia coli isolates in relation to phylogeny. Trop Biomed 2014; 31: 17-25.

[21] Nowrouzian FL, Adlerberth I, Wold AE. Enhanced persistence in the colonic microbiota of Escherichia coli strains belonging to phylogenetic group B2: role of virulence factors and adherence to colonic cells. Microb Infect 2006; 8: 834-840.

[22 Sannes MR, Kuskowski MA, Owens K, Gajewski A, Johnson JR. Virulence factor profiles and phylogenetic background of Escherichia coli isolates from veterans with bacteremia and uninfected control subjects. J Infect Dis 2004; 190: 2121-2128.

[23] Walk ST, Alm EW, Calhoun LM, Mladonicky JM, Whittam TS. Genetic diversity and population structure of Escherichia coli isolated from freshwater beaches. Environ Microbiol 2007; 9: 2274-2288.

[24] Vila J, Simon K, Ruiz J, Horcajada JP, Velasco M, Barranco M, et al. Are quinolone-resistant uropathogenic Escherichia coli less virulent? J Infect Disea 2002; 186: 1039-1042.

Investigation of phylogenetic diversity among Eschereshia coli isolates recovered from hospitalized patients

Omid Pajand (Ph.D)[1,2], Khatereh Ghassemi (M.Sc)[2], Fatemeh Kamali (M.Sc)[2], Sahar Taghavipoor (M.Sc)[2], Zoya Hojabri (Ph.D) [*1]

1 – School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
2 - Student Research Committee, Semnan Uiversity of Medical Sciences, Semnan, Iran

(Received: 12 Mar 2016; Accepted: 5 Oct 2016)

Introduction*: Eschereshia coli* (*E.coli*) as one of the major cause of infections in hospital settings can be classified into phylogenetic groups which are different in virulence, growth rates and antibiotic susceptibility patterns. In this study, we aimed to perform phylogenetic analysis in *E.coli* strains to understand association between phylogroups and antibiotic susceptibility patterns.

Materials and Methods*:* Two hundred and sixty *E. coli* isolates recovered from hospitalized patients at Kosar teaching hospital in Semnan city, Iran were subjected to phylogenetic typing by a quadruplex PCR method. Antimicrobial susceptibility testing was also performed by disk agar diffusion method.

Results*:* Phylogroup B2 was the most predominant phylogroup (38.4%) followed by A (14.8%), F (13.4%), D (9.3%), B1 (8.8%), C and E (4.6%), unknown (4.2%), and clade I (1.9%). We found 70.4% of our isolates were multiple drug resistant (MDR). The most and the least efficient antibiotics were meropenem and trimethoprime/sulfamethoxazole with 94.4% and 27.8% of susceptibility rates, respectively.

Conclusion*:* Our results represent the high prevalence of MDR *E. coli* isolates with dominance of phylogroup B2. Phylogroup B2 not only could be considered as a virulent phylogroup but also as a genetic antibiotic resistance reservoir.

Keywords*: Eschereshia coli*, Bacterial Drug Resistance, Phylogeny

* Corresponding author. Tel: +98 9122434337
hojabriz@yahoo.com