مجله علمی- پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی
تابستان 1391، دوره چهارم، شماره سیزدهم، صفحه 36-29

بررسی فیلوژنتیک تایپینگ سویه های *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت های ادراری

زهرا اعتبارزاده[1]، مژگان عشاقی[2]، نور امیرمظفری[3]

1- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران
2- استادیار باکتری شناسی پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
3- دانشیار میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

نویسنده مسؤول: زهرا اعتبارزاده. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. zahra_etebarzadeh@yahoo.com

دریافت: 91/4/7 پذیرش: 91/6/21

چکیده

زمینه و هدف: عفونت های دستگاه ادراری یکی از شایع ترین بیماری های عفونی است که *اشریشیا کلی*مهم ترین عامل ایجاد کننده این عفونت هاست. آنالیزهای فیلوژنتیکی نشان داده است که سویه های *اشریشیا کلی*در چهار گروه فیلوژنتیک (A، B1، B2 و D) تقسیم می شوند. هدف از این پژوهش تعیین گروه های فیلوژنتیک *اشریشیا کلی*های جدا شده از عفونت های ادراری بود.

روش بررسی: این مطالعه بر روی *اشریشیا کلی*های جدا شده از کشت ادرار بیماران مشکوک به عفونت ادراری انجام شد. از آزمون های بیوشیمیایی و میکروبی جهت تعیین هویت باکتری های جدا شده استفاده شد. طبقه بندی گروه های فیلوژنتیک سویه های *اشریشیا کلی* با استفاده از تکنیک Multiplex PCR دو ژن (chuA و yjaA) و یک قطعه از DNA (TSPE4.C2) انجام شد. بعد از الکتروفورز، سویه ها بر اساس حضور یا عدم حضور ژن ها و قطعه DNA در گروه های فیلوژنتیک قرار گرفتند.

یافته ها: از 100 سویه *اشریشیا کلی*شناسایی شده، شایع ترین گروه های فیلوژنتیک شناسایی شده B2 (65%)، D (19%) و A (16%) بودند. اما در هیچ کدام از نمونه های مورد بررسی گروه B1 شناسایی نشد. بر طبق یافته های این تحقیق سویه های بیماری زای خارج روده ای *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت های دستگاه ادراری بیشتر متعلق به گروه فیلوژنتیک B2 بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که روش مولکولی فیلوژنتیک تایپینگ بر پایه PCR ژن ها و قطعه DNA روشی ساده و سریع در تایپینگ سویه های *اشریشیا کلی* است. همچنین این تکنیک جهت کسب اطلاعات بیشتر راجع به پاتوژنز عفونت ها، کنترل عفونت های بیمارستانی و مطالعات اپیدمیولوژیکی کاربرد دارد.

واژه‌های کلیدی: *اشریشیا کلی*، فیلوژنتیک تایپینگ، عفونت دستگاه ادراری

www.SID.ir

مقدمه

اشریشیا کلی فلور نرمال مجاری گوارشی بیشتر جانوران و نیز انسان است. اغلب سویه های *اشریشیا کلی* بیماری زا نیستند، اما بعضی سویه های پاتوژنیک *اشریشیا کلی* می توانند باعث انواعی از بیماری های روده ای و خارج روده ای مانند سپتی سمی، مننژیت نوزادی، گاستروانتریت، عفونت های زخمی، عفونت های مجرای ادراری شوند (3-1). عفونت ادراری یکی از شایع ترین عفونت ها است که رتبه دوم پس از عفونت های دستگاه تنفس را به خود اختصاص داده است. باکتری‌های فراوانی قادر به ایجاد عفونت در سیستم ادراری هستند که در بین آنها *اشریشیا کلی* به عنوان شایع ترین عامل مطرح می‌باشد. در واقع در تمام دنیا هنوز *اشریشیا کلی* میکروارگانیسم غالب در عفونت های ادراری است که 90-80% موارد عفونت های ادراری را ایجاد می کند (6-4).

با بررسی کتابخانه ژنی سویه های *اشریشیا کلی* متعلق به گروه های فیلوژنتیک مختلف و تعیین خصوصیت قطعات ژنی متفاوت مشخص شد که ژن های خاص یا قطعاتی از DNA باکتری می توانند مارکرهای تخصصی گروه بندی فیلوژنتیک سویه های *اشریشیا کلی* باشند (8-7). این سه مارکر پیشنهاد شده عبارتند از: ***chuA***، ژنی که برای انتقال هم در *اشریشیا کلی* O157:H7 انتروهموراژیک ضروری است. ***yjaA***، ژنی که اولین بار در سکونس کامل ژنوم *اشریشیا کلی* K-12 شناسایی شد، عملکرد این ژن هنوز ناشناخته است و قطعه TSPE4.C2 از DNA که از کتابخانه ژنی *اشریشیا کلی* به دست آمد (7 و 11-9). سویه های *اشریشیا کلی* بر اساس چنین ساختار ژنتیکی با روش ریبوتایپینگ و یا روش الکتروفورز آنزیم چند لوکوسی (Multi Locus Enzyme Elecrophoresis or MLEE) در گروه های فیلوژنتیکی مجزایی (A, B1, B2, D) تقسیم بندی می شوند (13-12). Clermont و همکاران در سال 2000 در پاریس برای اولین بار روش PCR را جایگزین روش های فوق کردند. این روش با تست 230 سویه *اشریشیا کلی* به وسیله PCR ژن های ***chuA*** و ***yjaA*** و قطعه TSPE4.C2 مورد ارزیابی قرار گرفت که همه این سویه ها قبلا توسط روش های مرجع (ریبوتایپینگ و MLEE) گروه بندی شده بودند. لذا از آن پس PCR به عنوان روشی ساده تر و سریع تر در مطالعات گروه بندی فیلوژنتیک استفاده شد؛ زیرا دو تکنیک مرجع دیگر پیچیده و زمان بر هستند و به مجموعه ای از سویه های الگو نیاز دارند. همچنین PCR قابلیت اطمینان بالا، حساسیت و اختصاصیت بیشتری نسبت به روش های فوق الذکر دارد (8 و 14). هدف از این مطالعه تایپینگ و گروه بندی فیلوژنتیکی سویه های *اشریشیا کلی* به دست آمده از عفونت های ادراری بر اساس حضور یا عدم حضور ژن ها و قطعه ای از DNA جهت کسب اطلاعات بیشتر راجع به پاتوژنز و کنترل عفونت های ادراری می باشد.

روش بررسی

تعداد 100 نمونه مشکوک به عفونت ادراری از بیمارستان کلیوی فوق تخصصی شهید هاشمی نژاد تهران در فاصله زمانی دی 1389 تا تیر 1390 جمع آوری شده و با توجه به میکروسکوپی ادرار (گلبول های سفید و قرمز، سلول های اپی تلیال و باکتری) و نیز کانت قابل قبول رشد باکتری، مورد بررسی قرار گرفته و پس از کشت روی محیط های بلاد آگار و مک کانکی آگار و EMB آگار، تشخیص باکتری *اشریشیا کلی* با روش های میکروب شناسی شامل رنگ آمیزی گرم، تست کاتالاز و اکسیداز و استفاده از محیط های افتراقی مانند TSI، SIM، Lys، MRVP، سیمون سیترات، فنیل آلانین آگار، اوره و نیز تست های تکمیلی بیوشیمیایی مانند تخمیر قندها و استفاده از آمینواسیدها، طبق جدول تشخیص میکروب شناسی انجام گرفت.

بعد از تشخیص نهایی با روش جوشاندن (Boiling) از نمونه های باکتریایی استخراج DNA به عمل آمد. برای استخراج DNA به روش جوشاندن، چند لوپ باکتری از کشت 24 ساعته در 1/5 سی سی آب مقطر استریل سوسپانسیون شده و به مدت 30-20 دقیقه در آب جوش قرار داده شد. سپس اندازه گیری کمی DNA در طول موج 260 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر به منظور اطمینان از خلوص DNA استخراج شده انجام گردید.

به منظور تایپینگ و گروه بندی فیلوژنتیک سویه های *اشریشیا کلی* از روش Multiplex (triplex) PCR استفاده شد. سه مارکر مورد مطالعه دو ژن ***chuA*** و ***yjaA*** و قطعه TSPE4.C2 از DNA بوده که برای PCR آنها پرایمرهایی با توالی های زیر مورد استفاده قرار گرفت (جدول 1). به منظور بهینه سازی PCR یعنی تعیین غلظت های مناسب مواد واکنشگر و دمای مطلوب اتصال پرایمرها جهت به دست آوردن محصول مناسب نیز آزمایشات مختلفی برای هر یک از

www.SID.ir

پارامترها مثل دمای اتصال پرایمرها و تعداد سیکل های PCR انجام شد، سپس با بررسی محصول PCR و نوع پرایمرها و نیز شرایط واکنش، بهترین دما و سیکل انتخاب گردید که در این بررسی دمای 57 درجه سانتیگراد و تعداد 30 سیکل انتخاب شد (جدول 2).

جدول 1. پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه (8)

Primer	Primer Sequence (5' - 3')	Amplicon Size (bp)	Reference
chuA (F)	GAC GAA CCA ACG GTC AGG AT	279	8
chuA (R)	TGC CGC CAG TAC CAA AGA CA	279	8
yjaA (F)	TGA AGT GTC AGG AGA CGC TG	211	8
yjaA (R)	ATG GAG AAT GCG TTC CTC AAC	211	8
TSPE4.C2 (F)	GAG TAA TGT CGG GGC ATT CA	152	8
TSPE4.C2 (R)	CGC GCC AAC AAA GTA TTA CG	152	8

جدول 2. شرایط PCR

Stage	Tempreture	Time
Initial denaturation	94°C	5min
Denaturation	94°C	30s
Annealing	57°C	30s
Extension	72°C	30s
Final Extension	72°C	5min
➢ Cycle Number (30)		

سپس به منظور شناسایی دو ژن *chuA* و *yjaA* و قطعه TSPE4.C2 محصولات PCR را الکتروفورز کرده و از نمونه بدون DNA نیز به عنوان کنترل منفی استفاده شد. پس از الکتروفورز، سویه ها بر اساس حضور یا عدم حضور ژن ها و قطعه DNA گروه بندی می شوند: گروه B2 (*chuA* +, *yjaA* +)، گروه D (*chuA* +, *yjaA* -)، گروه B1 (*chuA* -, TSPE4.C2 +) و گروه A (*chuA* -, TSPE4.C2 -) (جدول 3).

جدول 3. پروفایل تشخیص گروه های فیلوژنتیک سویه های *E. coli* بر اساس توزیع باندهای PCR

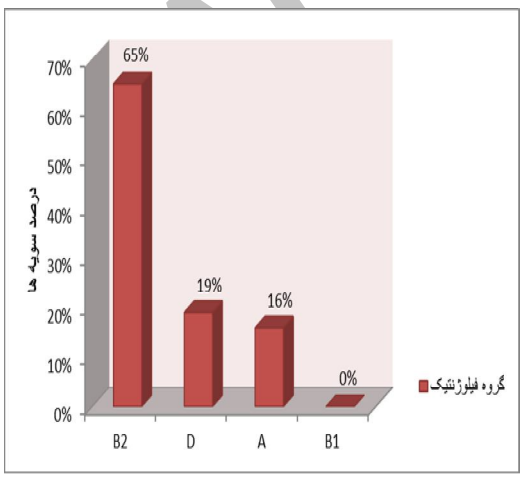
گروه فیلوژنتیک / مارکر	A	A	B1	D	D	B2	B2
chuA	−	−	−	+	+	+	+
yjaA	−	+	−	−	−	+	+
TSPE4.C2	−	−	+	−	+	−	+

یافته ها

شیوع عفونت دستگاه ادراری در همه گروه های سنی و در جنس مونث بیشتر مشاهده گردید، به طوری که 65% نمونه های مورد مطالعه مربوط به زنان و 35% مربوط به مردان بود. 75% نمونه های مورد مطالعه در این تحقیق متعلق به بیماران سرپایی (out-patient) و 25% مربوط به بیماران بستری (in-patient) در بیمارستان بود.

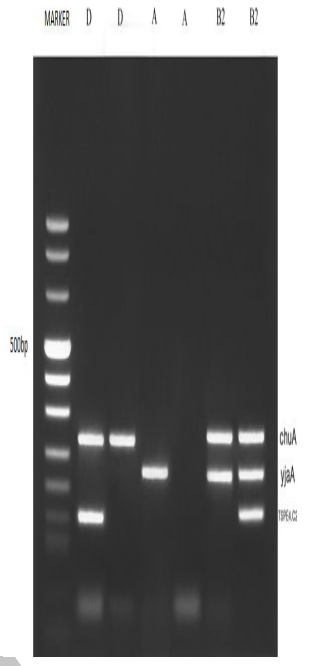
نتایج PCR نشان داد که 65% (65 مورد) سویه ها متعلق به گروه فیلوژنتیک B2، 19% (19 مورد) متعلق به گروه فیلوژنتیک D و 16% (16مورد) متعلق به گروه فیلوژنتیک A می باشند. گروه فیلوژنتیک B1 در بین سویه های مورد مطالعه در این تحقیق مشاهده نشد (نمودار 1 و شکل 1).

نمودار 1. توزیع گروه های فیلوژنتیک سویه های *E. coli*



www.SID.ir

شکل1. تصویر ژل الکتروفورز حاصل از PCR ژن های *chuA* و *yjaA* و قطعه TSPE4.C2



از چپ به راست ستون 1kb DNA Marker 1 شرکت Vivantis، ستون های 2 و 3 گروه فیلوژنتیک D (*chuA* +, *yjaA* -)، ستون های 4 و 5 گروه A (*chuA* -, TSPE4.C2 -)، ستون های 6 و 7 گروه B2 (*chuA* +, *yjaA* +)

بحث

عفونت های دستگاه ادراری جزء شایع ترین بیماری های عفونی می باشند که سالیانه حدود 150 میلیون نفر در جهان به عنوان بیماران مبتلا به UTI (Urinary Tract Infection) شناخته می شوند. *E. coli* از خانواده انتروباکتریاسه، غالب ترین پاتوژن ایجاد کننده عفونت های دستگاه ادراری است؛ به طوری که 90-80 درصد موارد عفونت ادراری به *E. coli* نسبت داده شده است. مطالعات نشان می دهد که سویه های *E. coli* کومنسال معمولا در گروه های فیلوژنتیک A یا B1 جای دارند؛ در حالی که سویه های *E. coli* پاتوژن روده ای جزء گروه های فیلوژنتیک A، B1 یا D می باشند. در مقابل سویه های بیماری زای خارج روده ای عموما در گروه فیلوژنتیک B2 و به میزان کمتر در گروه D قرار دارند (8 و 14-15).

در مطالعه حاضر به منظور تایپینگ و گروه بندی فیلوژنتیکی 100 سویه *E. coli* به دست آمده از عفونت های ادراری، اکثریت سویه ها (65%) در گروه فیلوژنتیکی B2 و پس از آن در گروه های D و A به ترتیب با 19% و 16% قرار گرفتند. توزیع سویه های مورد مطالعه ما در گروه های فیلوژنتیکی با نتایج و الگوی به دست آمده از مطالعات Clermont و همکارانش مبنی بر این که اغلب سویه های بیماری زای خارج روده ای در گروه B2 و بعد از آن در گروه D قرار می گیرند مطابقت دارد. لازم به ذکر است که سویه متعلق به گروه فیلوژنتیک B1 در بین سویه های مورد مطالعه ما یافت نشد که با تحقیق Grude و همکاران در روسیه در 2007 و sawma-Aouad و همکاران در 2009 در لبنان بر روی *اشریشیا کلی*های به دست آمده از عفونت های ادراری از این نظر تشابه دارد که هیچ کدام از سویه ها متعلق به گروه B1 نبودند (8 و 16 و 17).

در تحقیق Zhao و همکاران در سال 2009 در چین بر روی 202 سویه *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت ادراری، گروه های D و B2 فراوان ترین گروه های فیلوژنتیک بودند (18).

در مطالعه Rijavec و همکاران در 2008 بر روی 105 سویه *اشریشیا کلی* ادراری در اسلوونی، این نتایج به دست آمد: 51% سویه ها به گروه B2، 20% به گروه D، 15% به گروه A و 13% به گروه B1 تعلق دارند که این نتایج از جهت این که اکثریت سویه ها متعلق به گروه B2 و پس از آن گروه های D و A می باشند، با نتایج تحقیق ما هم خوانی دارد. همچنین در پژوهش های Kanamaru و همکاران در 2006 در ژاپن و Jahnson و همکاران در 2005 در آمریکا نیز فراوان ترین سویه های جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت های ادراری در گروه فیلوژنتیک B2 قرار گرفتند (2 و 19 و 20).

مطالعات Hancock و همکاران در 2009 در دانمارک و Ho و همکاران در همان سال در هنگ کنگ نشان داد که اغلب نمونه های ادراری متعلق به گروه های فیلوژنتیک B2 و D می باشند (21).

این مطالعه با مطالعه Ejrnaes در دانمارک در سال 2011 که بر روی سویه های *اشیریشیا کلی*ادراری تحقیق کرده بود، از این جهت مشابهت داشت که اغلب سویه ها از نظر فیلوژنتیک در گروه B2 و سپس در گروه های دیگر قرار می گرفتند. در تحقیق Piatti و همکاران در ایتالیا در 2008 بر روی سویه های *اشریشیا کلی*ادراری 56% از سویه ها در گروه B2 قرار گرفتند که با نتایج تحقیق ما (65% در گروه فیلوژنتیک B2) نیز هم خوانی دارد. اما با مطالعه Moreno و همکاران و

www.SID.ir

نیز Johnson و همکاران که به ترتیب سویه های گروه A و D در نتایج آنها غالب بود، مطابقت نداشت. یکی از دلایل عدم مطابقت می تواند تفاوت توزیع سویه ها در مناطق جغرافیایی مختلف باشد (14 و 24-22).

در مطالعه ای در پاکستان در سال 2009 بر روی 29 سویه *اشریشیا کلی* به دست آمده از عفونت های زخمی که همگی دارای مقاومت چند دارویی بودند، بر خلاف انتظار اکثریت سویه ها (44/8%) متعلق به گروه A بوده و بعد از آن در گروه های B2 و D (هر کدام 24/1%) و گروه B1 (6/9%) قرار گرفتند که نتایج این تحقیق نیز با مطالعه ما هم خوانی ندارد. به نظر می رسد که با افزایش پروفایل مقاومت دارویی، تغییر از گروه فیلوژنتیک B2 به سمت گروه A مشاهده شده است (3).

یکی از دلایل اختلافات این است که اکثر مطالعات در کشورهای اروپایی صورت گرفته که از لحاظ شرایط جغرافیایی، الگوی مصرف آنتی بیوتیک و توزیع سویه های مقاوم به دارو با کشور ما تفاوت بسیار دارند. از طرفی تعداد سویه های مطالعه شده در مقالات فوق الذکر نسبت به مطالعه ما بسیار کمتر می باشد. به علاوه یکی از اختلافات ممکن است به علت منبع نمونه باشد که در این مطالعه سویه های جدا شده از ادرار و در سایر منابع به طور مثال سویه های زخم (3) مورد بررسی قرار گرفته است، که همه این عوامل می تواند تفاوت گروه های فیلوژنتیک را در بر داشته باشد.

به جهت آن که در مطالعات انجام شده در کشور ما گزارشی در خصوص فیلوژنتیک تایپینگ وجود ندارد، امکان مقایسه در مورد سویه های بومی وجود نداشت و به نظر می رسد که آنالیز مجموعه سویه های *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت ادراری و حتی دیگر عفونت های خارج روده ای به ویژه از مناطق مختلف جغرافیایی کشور می تواند در جهت کسب اطلاعات اپیدمیولوژی توزیع فیلوژنتیکی و توزیع سویه های بیماریزا و نیز سویه های مقاوم به دارو جهت کاربرد صحیح آنتی بیوتیک ها (برای بیماران و حتی برای محصولات دامی) و نیز کنترل عفونت های بیمارستانی بسیار مفید باشد. امروزه با استفاده از تایپینگ مولکولی در بیمارستان ها از شیوع بسیاری از عفونت های بیمارستانی جلوگیری شده و از این نظر به اقتصاد و سلامت جوامع مختلف کمک شایانی می گردد.

تعدادی از عفونت ها ناشی از میکروب های کومنسال می باشند، بنابراین تعیین این که ایزوله جدا شده از فرد بیمار، سویه پاتوژن می باشد یا این که سویه کومنسال سبب ایجاد عفونت شده است، حائز اهمیت است. همچنین با تایپینگ می توان مشخص کرد که ایجاد آلودگی در فردی که دچار عفونت مجدد شده، در اثر عود بیماری می باشد یا این که توسط سویه ای غیر از سویه ایجاد کننده عفونت اولیه به وجود آمده است.

در حال حاضر تکنیک های ژنتیک مولکولی مانند تایپینگ باکتری ابزاری مهم و کارامد در شناسایی و طبقه بندی باکتری ها می باشد و با پیشرفت روش های مولکولی در دو دهه اخیر، انواع روش های تایپینگ مانند فیلوژنتیک تایپینگ به روش PCR بر اساس ویژگی های ژنتیکی باکتری ها نسبت به روش های کلاسیک تیپ بندی و نیز روش های تایپینگ فنوتیپی با فراوانی بیشتر در سراسر دنیا در حال انجام می باشند. با تایپینگ مولکولی می توان شیوع عفونت های بیمارستانی، شناسایی مخازن آلودگی ناشی از غذا و حتی انتشار سویه های پاتوژنیک گیاهی در محیط را مشخص کرد و هم چنین این روش ها به ما آگاهی بیشتری درباره اصول اپیدمیولوژی و تکامل و انتشار بسیاری از بیماری های باکتریال می دهند.

آگاهی از اصول اپیدمیولوژی جمعیت های میکروبی در میکروب شناسی به ویژه میکروب شناسی پزشکی بسیار حائز اهمیت است و در کاربردهای عملی تایپینگ، بررسی توزیع پاتوژن در مطالعات اپیدمیولوژیکی اهمیت ویژه ای دارد، چرا که تعیین اپیدمیولوژی پاتوژن و عفونت به طراحی روش هایی جهت کنترل پاتوژن کمک فراوان می کند. نقش تایپینگ پاتوژن این می باشد که مشخص کند اگر ایزوله هایی از نظر اپیدمیولوژیکی وابسته هستند، آیا از نظر ژنتیکی نیز به هم مربوط می باشند. به کارگیری روش های مولکولی همچون تایپینگ برای تیپ بندی پاتوژن ها در ارتباط دهی دقیق بین سویه ها و گونه ها بسیار اساسی می باشد. اثبات ارتباط کلون های یک پاتوژن به ما این امکان را می دهد که منبع آلودگی (انسان یا محیط) را پیدا کرده، سویه های عفونی را از سویه های غیر عفونی متمایز نموده و در نهایت عود بیماری را از عفونت مجدد آن تفکیک نماییم.

نتیجه گیری

نتایج نشان داد که سویه های بیماری زای *اشریشیا کلی* در ایجاد عفونت ادراری عموما در گروه فیلوژنتیک B2 و به میزان کمتر در گروه D قرار دارند. همچنین نتایج نشان داد که روش مولکولی فیلوژنتیک تایپینگ بر پایه PCR ژن ها و قطعه ای از

Archive of SID
www.SID.ir

DNA به عنوان روشی ساده و سریع در تایپینگ و طبقه بندی باکتری های *اشریشیا کلی* و نیز جهت کسب اطلاعات بیشتر راجع به پاتوژنز و کنترل عفونت های ادراری کاربرد دارد.

تشکر و قدردانی

از مسئولین آزمایشگاه تحقیقاتی سلولی و مولکولی دانشگاه تهران، پرسنل آزمایشگاه میکروب شناسی بیمارستان شهید هاشمی نژاد و کارشناسان محترم آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران به ویژه سرکار خانم شادی سیدمحمود که در انجام این مطالعه صمیمانه همکاری نمودند، سپاسگزاری می گردد.

References

1. Petkovsek Z, Elersic K, Gubina M, Zgur-Bertok D, Starcic Erjavcc M. *Virulence potential of Escherichia coli isolates from skin and soft tissue infections*. Journal of Clinical Microbiology. 2009; 47(6):1811-17.
2. 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*. Medical microbiology. 2008; 57:1329-34.
3. Saeed M A, 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.
4. Kurutepe S, Surucuoglu S, Sezgin C, Gazi H, Gulay G, Ozckkaloglu B. *Increasing antimicrobial resistance in Escherichia coli isolates from community acquired urinary tract infections during 1998-2003 in Manisa, Turkey*. Jpn J Infect Dis. 2005; 58:159-161.
5. Jha N, Bapat S K. *A study of sensitivity and resistance of pathogenic microorganisms causing UTI valley*. Kathmandu Univ Med J. 2005; 3(10):123-129.
6. Farrel D J, Morrisey I, De Rubeis D, Robbins M, Felmingham D. *A UK multicenter study of the antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens causing urinary tract infection*. J Infect. 2003; 46(2):94-100.
7. Bonacorsi S P P, Clermont O, Tinsley C, Le Gall I, Beaudoin J C, Elion J, Nassif X, Bingen E. *Identification of regions of the* Escherichia coli *chromosome specific for neonatal meningitis-associated strains*. Infect Immun. 2000; 68:2096–2101.
8. Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. *Rapid and simple determination of the Escherichia coli phylogenetic group*. Applied and Environmental Microbiology. 2000; 66(10):4555-58.
9. Blattner F R, Plunkett G I, Bloch C A, Perna N T, Burland V, Riley M, Collado-Vides J, Glasner J D, Rode C K, Mayew G F, Gregor J, Davis N W, Kirkpatrick H A, Goeden M A, Rose D J, Mau B, Shao Y. *The complete genome sequence of* Escherichia coli *K-12*. Science. 1997;277:1453–61.
10. Mills M, Payne S. *Genetics and regulation of haem iron transport in* Shigella dysenteriae *and detection of an analogous system in* Escherichia coli *O157:H7*. J Bacteriol. 1995;177:3004–09.
11. Torres A G, Payne S. *Haem iron-transport system in enterohaemorrhagic* Escherichia coli *O157:H7*. Mol Microbiol. 1997;23:825–833.
12. Johnson J R, Kuskowski M A, Gajewski A, Soto S, Horcajada J P, 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.
13. 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; 44:4589-92.
14. Ejrnaes K. *Bacterial characteristics of importance for recurrent urinary tract infections caused by Escherichia coli*. Dan Med Bull. 2011; 58(4):B4187.
15. 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):2090-95.
16. Grude N, Potaturkina-Nesterova N I, Jenkins A, Strand L, Nowrouzian F L, Nyhus J, Kristiansen B E. *A comparison of phylogenetic group, virulence factors and antibiotic resistance in Russian and Norwegian isolates of Escherichia coli from urinary tract infection*. Clin Microbial Infect. 2007; 13:208-211.
17. Sawma-Aouad G, Hashwa F, Tokajian S. *Antimicrobial resistance in relation to virulence determinants and phylogenetic background among uropathogenic Escherichia coli in Labanon*. J Chemother. 2009; 21(2):153-158.
18. Zhao L, Chen X, Zhu X, Yang W, Dong L, Xu X, Gao S, Liu X. *Prevalence of virulence factors and antimicrobial resistance of uropathogenic Escherichia coli in Jiangsu province (China)*. Urology. 2009; 74(3):702-707.
19. Kanamaru S, Kurazono H, Nakano M, Terai A, Ogawa O, Yamamoto S. *Subtyping of uropathogenic Escherichia coli according to the pathogenicity island encoding uropathogenic-specific protein: comparison with phylogenetic groups*. Int J Urol. 2006; 13(6):754-760.
20. Jahnson J R, Owens K, Gajewski A, Kuskowski M. *Bacterial characteristics in relation to clinical source of Escherichia coli isolates from women with acute cystitis or pyelonephritis and uninfected women*. J Clin Microbial. 2005; 43(12):6064-6072.
21. Hancock V, Nielsen E M, Krag L, Engberg J, Klemm P. *Comparative analysis of antibiotic resistance and phylogenetic group patterns in human and porcine urinary tract infectious Escherichia coli*. APMIS. 2009; 117(11):786-790.

www.SID.ir

22. Johnson J R, Kuskowski M A, Owens K, Gajewski A, Winokur P L. *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; 188:759-768.
23. Moreno E, Prats G, Sabate M, Perez T, Johnson J R, Andreu A. *Quinolone, fluoroquinolone and trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in relation to virulence determinants and phylogenetic background among uropathogenic Escherichia coli*. J. Antimicrob. Chemother. 2006; 57:204–211.
24. Piatti G, Mannini A, Balistreri M, Schito A M. *Virelence factors in urinary Escherichia coli strains: phylogenetic background and Quinolone and Fluoroquinolone resistance*. Journal of Clinical Microbiology. 2008; 46(2):480-487.

Archive of SID

www.SID.ir