Arc

مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، آذر ۱۳۹۷، دوره ۷۶، شماره ۹، صفحه‌های ۶۲۹ تا ۶۳۶

مقاله اصیل

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 7:20 IRST on Monday December 24th 2018

تایپینگ مولکولی سویه‌های *اشریشیاکلی* مقاوم به فلوروکینولون جداسازی‌شده از بیماران تحت بیوپسی پروستات

امیر حسن‌زاده[۱و۲]
محمدرضا پورمند[۲*]
شهرام گوران[۳]
حسن حسین‌زادگان[۱]
اصغر تنومند[۱]
غلامرضا پورمند[۳]

۱- گروه میکروب‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی مراغه، مراغه، ایران.
۲- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت و مرکز تحقیقات زیست فناوری، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۳- مرکز تحقیقات ارولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

[*] نویسنده مسئول: تهران، بلوار کشاورز، خیابان قدس، خیابان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، گروه پاتوبیولوژی. تلفن: ۸۸۹۵۴۹۱۰-۰۲۱
E-mail: mpourmand@tums.ac.ir

چکیده

دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۲۲ ویرایش: ۱۳۹۷/۰۴/۲۹ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۲۵ آنلاین: ۱۳۹۷/۱۰/۰۵

زمینه و هدف: باکتری *اشریشیاکلی* از مهمترین عوامل عفونی در بیماران تحت بیوپسی پروستات است. هدف از انجام پژوهش کنونی، تایپینگ مولکولی ایزوله‌های *اشریشیاکلی* کلونیزه مقاوم به فلوروکینولون و عفونت‌های ناشی از آن در بیماران تحت بیوپسی پروستات بود.

روش بررسی: در این مطالعه کوهورت که از فروردین تا بهمن ۱۳۹۵ در مرکز تحقیقات ارولوژی بیمارستان سینا (تهران) انجام گردید، سواب‌های رکتال از ۱۵۸ بیمار مرد پیش از بیوپسی پروستات گردآوری شد. باکتری‌های گرم منفی مقاوم به سیپروفلوکساسین به‌همراه پس‌زمینه فیلوژنتیکی (با استفاده از روش Quadruplex PCR)، شیوع ST131 و ساب‌کلون‌های آن (H30 and H30-RX131) در دو گروه ایزوله‌های *اشریشیاکلی* کلونیزه و بالینی مورد مقایسه قرار گرفت.

یافته‌ها: از مجموع، ۷۳ بیمار دارای کشت مثبت رکتال برای باکتری‌های گرم منفی مقاوم به فلوروکینولون بودند که غالب‌ترین ایزوله *اشریشیاکلی* بود. بیشترین ایزوله‌ها در گروه فیلوژنتیک B2 و به‌دنبال آن به‌ترتیب در گروه‌های A، E، C و D، B1 و F قرار داشتند. ایزوله‌های *اشریشیاکلی* مقاوم به فلوروکینولون، مقاومت سطح خیلی بالا به آمپی‌سیلین و تریمتوپریم- سولفامتوکسازول را از خود نشان دادند. به‌طور کلی، بیشتر ایزوله‌های *اشریشیاکلی* مقاوم به چندین آنتی‌بیوتیک در گروه B2 و با ژنوتایپ ST131 تشخیص داده شد. باوجود افزایش عفونت در میان بیماران کلونیزه با سویه *E. coli* ST131، تفاوت کمابیش معناداری در شیوع آن در بین دو گروه مشاهده شد (P=۰/۰۶).

نتیجه‌گیری: پاتوژن ST131 شیوع بالایی را در کلونیزاسیون رکتال و عفونت‌های پس از بیوپسی پروستات داشت که مقاومت گسترده‌ای به آنتی‌بیوتیک‌های رایج را نشان داد.

کلمات کلیدی: بیوپسی، مقاومت دارویی، *اشریشیاکلی*، عفونت، پروستات.

مقدمه

طی سال‌های اخیر عفونت‌های پس از بیوپسی پروستات به موازات مقاومت باکتری‌ها به فلوروکینولون افزایش پیدا کرده است.[۱و۲] از طرف دیگر، باکتری‌های مقاوم به فلوروکینولون کلونیزه در رکتال، یک عامل خطر ایجاد عفونت در بیماران تحت بیوپسی پروستات هستند.[۳-۶] بیشترین عامل عفونت‌ها پس از بیوپسی پروستات، *اشریشیاکلی* (به‌ویژه مقاوم به فلوروکینولون) می‌باشد که به احتمال زیاد از رکتوم بیماران در زمان بیوپسی منشا می‌گیرد.[۵و۷و۸] طی سال‌های اخیر نگرانی‌هایی از پیدایش کلونال گروپ *اشریشیاکلی* با سکوئنس تایپ ۱۳۱ (ST131) به‌صورت پاندمیک گزارش شده است که بیشتر اعضای این گروه، مقاوم به فلوروکینولون و برخی بتالاکتامازهای گسترده‌طیف هستند.[۹]

بررسی‌های فیلوژنتیک نشان می‌دهد که *اشریشیاکلی* تایپ ST131

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 7:20 IRST on Monday December 24th 2018

متعلق به گروه فیلوژنتیک B2 است و این گروه در مقایسه با دیگر گروه‌های فیلوژنتیکی واجد فاکتورهای ویرولانس بیشتری است و دیگر اینکه می‌تواند با ظرفیت بالایی در روده کلونیزه شود.[۱۰و۱۱] پاتوژن *E. coli* ST131 عامل مهم عفونت‌های خارج روده‌ای شامل سپسیس، منتژیت و مجاری ادراری می‌باشد که به‌طور معمول به چندین آنتی‌بیوتیک به‌طور همزمان مقاوم است. به‌طوری‌که در مطالعات اخیر نشان داده شده است که ST131 عامل بیش از ۴۰٪ عفونت‌های خونی پس از بیوپسی پروستات است که این نشان‌دهنده اهمیت کلونیزاسیون این تایپ از *اشریشیاکلی* در رکتال می‌باشد.[۹و۱۰و۱۲و۱۳] هدف از انجام پژوهش کنونی، تایپینگ مولکولی ایزوله‌های *اشریشیاکلی* کلونیزه مقاوم به فلوروکینولون و عفونت‌های ناشی از آن و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌میکروبیال در بیماران تحت بیوپسی پروستات بود.

روش بررسی

در این مطالعه کوهورت که از فروردین تا بهمن ۱۳۹۵ انجام گردید، ۱۵۸ بیمار مشکوک به سرطان پروستات جهت انجام بیوپسی به‌روش ترانس‌رکتال به مرکز تحقیقات ارولوژی، بیمارستان سینا واقع در شهر تهران مراجعه کردند. مجوز اخلاق جهت پژوهش کنونی از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران (۲۸۸۴۸-۲۷-۰۱-۹۴) دریافت گردید. از آنتی‌بیوتیک‌های فلوروکینولون به‌عنوان پیشگیری (۵۰۰ mg، دو ساعت پیش از بیوپسی تا چهار روز دو بار در روز پس از بیوپسی به‌صورت خوراکی) استفاده شد. نمونه‌گیری به دو صورت انجام شد که عبارتند از نمونه‌گیری توسط سواب‌های رکتال (Cotton-tipped) بلافاصله پیش از بیوپسی پروستات از بیماران گرفته شد (دو سواب رکتال به ازای هر بیمار). سواب‌ها بلافاصله به درون محیط Brain heart infusion broth حاوی ۱۰ µg/ml سیپروفلوکساسین برده شد و پس از انکوباسیون در ۳۵ °C، ۰/۱ ml از محیط براث برداشته و در محیط مک کانکی آگار حاوی ۱۰ µg/ml سیپروفلوکساسین به‌صورت خطی کشت داده شد. سپس پلیت‌های با کشت مثبت، جهت شناسایی ایزوله‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

همه بیماران پس از انجام بیوپسی پروستات، تا ۳۰ روز توسط تلفن مورد پیگیری قرار گرفتند تا وجود عفونت‌ها پس از بیوپسی پروستات ثبت گردد. از بیماران سوالاتی مانند تب بالای ۳۸ °C، لرز، گیجی، درد روی مثانه و سوزش ادرار پرسیده شد و متناسب با نوع عفونت، از خون و ادرار نمونه‌برداری کرده و در محیط‌های بلاد آگار و مک کانکی کشت صورت گرفت. در مراحل بعدی توسط تست‌های تکمیلی و بیوشیمیایی باکتری‌های عامل عفونت شناسایی گردید.

برای باکتری‌های مقاوم به فلوروکینولون پیش از بیوپسی پروستات و باکتری‌های عامل عفونت آنتی‌بیوگرام انجام شد. در این مرحله ابتدا از روش انتشار از دیسک براساس دستورکار شرکت سازنده و پروتکل Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) برای سنجش حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی (آمیکاسین، آموکسی‌سیلین، آموکسی‌سیلین- کلاولانیک اسید، پیپراسیلین- تازوباکتام، سفازولین، سفپیم، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، ایمی‌پنم، لووفلوکساسین، فسفومایسین، نیتروفورانتوین و تری‌متوپریم- سولفامتوکسازول) استفاده گردید. سپس برای ایزوله‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های مربوطه و ایزوله‌های عامل عفونت از روش E-test (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France) برای سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی استفاده گردید.

برای استخراج ژنوم ایزوله‌های باکتریایی از کیت تخلیص (Yekta Tajhiz Azma, Tehran, Iran) استفاده شد. ایزوله‌های *اشریشیاکلی* کلونیزه مقاوم به فلوروکینولون و ایزوله‌های بالینی، با استفاده از روش Quadruplex PCR به هفت گروه فیلوژنیکی گروه‌بندی شدند (جدول ۱). در این روش از چهار ژن arpA، chuA، yjaA و TspE4.C2 برای تعیین گروه فیلوژنیکی A، B1، B2، E، F، C و D ایزوله‌های *اشریشیاکلی* استفاده گردید.[۱۴] همه واکنش‌های Polymerase chain reaction (PCR) در حجم ۲۰ µl شامل ۲ µl بافر 10X (عرضه‌شده با Taq پلیمراز)، دو میکرومولار از هر dNTP، دو واحد از Taq پلیمراز، ۲ µl از DNA و پرایمر مناسب انجام شد.

مقدار پرایمرهای استفاده‌شده ۲۰ پیکومول به‌جز برای Acek.f (40pmol)، ArpA1.r (40pmol)، trpBA.f (12pmol) و trpBA.r (12pmol) بود. برنامه واکنش PCR شامل یک حرارت اولیه ۹۵ °C به‌مدت پنج دقیقه سپس ۳۲ سیکل متشکل از ۹۴ °C به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۵۹ °C به‌مدت ۲۰ ثانیه (دمای آنیلینگ در ۵۷ °C برای ۲۰ ثانیه (گروه E) یا ۵۹ °C برای Quadruplex PCR و گروه C)، ۷۲ °C به‌مدت یک دقیقه و یک مرحله پایاتی ۷۲ °C به‌مدت ۱۰ دقیقه بود. از سویه *اشریشیاکلی* K12 به‌عنوان کنترل منفی استفاده گردید. محصول PCR در ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 7:20 IRST on Monday December 24th 2018

جدول ۱: توالی پرایمرها و اندازه محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مورد استفاده در گروه‌بندی فیلوژنیکی

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز	شناسه پرایمر	هدف	توالی پرایمر	اندازه (bp)
Quadruplex	chuA.1b	*chuA*	5′-ATGGTACCGGACGAACCAAC-3′	۲۸۸
	chuA.2		5′-TGCCGCCAGTACCAAAGACA-3′	
	YjaA.1b	*yjaA*	5′-CAAACGTGAAGTGTCAGGAG-3′	۲۱۱
	YjaA.2b		5′-AATGCGTTCCTCAACCTGTG-3′	
	TspE4C2.1b	TspE4.C2	5′-CACTATTCGTAAGGTCATCC-3′	۱۵۲
	TspE4C2.2b		5′-AGTTTATCGCTGCGGGTCGC-3′	
	AceK.f	*arpA*	5′-AACGCTATTCGCCAGCTTGC-3′	۴۰۰
	ArpA1.r		5′-TCTCCCCATACCGTACGCTA-3′	
گروه E	ArpAgpE.f	*arpA*	5′-GATTCCATCTTGTCAAAATATGCC-3′	۳۰۱
	ArpAgpE.r		5′-GAAAAGAAAAAGAATTCCCAAGAG-3′	
گروه C	trpAgpC.1	*trpA*	5′-AGTTTTATGCCCAGTGCGAG-3′	۲۱۹
	trpAgpC.2		5′-TCTGCGCCGGTCACGCCC-3′	
کنترل داخلی	trpBA.f	*trpA*	5′-CGGCGATAAAGACATCTTCAC-3′	۴۸۹
	trpBA.r		5′-GCAACGCGGCCTGGCGGAAG-3′	

جدول ۲: تفسیر آزمایش Quadruplex PCR و چگونگی گروه‌بندی ایزوله‌ها

گروه	TspE4.C2 (152bp)	*yjaA* (211bp)	*chuA* (288bp)	*arpA* (400bp)
A	-	-	-	+
B1	+	-	-	+
F	-	-	+	-
B2	-	+	+	-
B2	+	+	+	-
B2	+	-	+	-
A or C	-	+	-	+
D or E	-	-	+	+
D or E	+	-	+	+

جدول ۲ چگونگی گروه‌بندی ایزوله‌ها را به تفسیر نشان می‌دهد. به‌علت تشابه الگوی گروه A با C و E با D، باید تمایزی بین این گروه‌ها انجام شود. بنابراین ایزوله‌های که ابتدا به‌عنوان گروه A و D شناسایی شده‌اند، دو واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای گروه‌های E و C گذاشته می‌شود که در صورت منفی بودن این آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای گروه E و C، ایزوله‌ها متعلق به گروه A و D خواهند بود و بر عکس.[۱۴] برای تعیین ST131 از روش سریع بر پایه Single nucleotide polymorphisms (SNPs) PCR استفاده شد. در این روش از دو ژن به‌نام mdh و gyrB از ژن‌های محافظت‌شده به‌کار رفته در Multilocus sequence typing (MLST) استفاده شد. همه

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 7:20 IRST on Monday December 24th 2018

واکنش‌های PCR در حجم ۲۵ µl شامل ۱۲ µl مستر میکس، ۲ µl از هر پرایمر، ۲ µl از DNA و ۷ µl آب دیونیزه انجام شد. برنامه واکنش PCR شامل یک حرارت اولیه ۹۵ °C به‌مدت ۱۰ دقیقه سپس ۳۲ سیکل متشکل از ۹۴ °C به‌مدت یک دقیقه، ۶۵ °C به‌مدت یک دقیقه، ۷۲ °C به‌مدت یک دقیقه و یک مرحله پایاتی ۷۲ °C به‌مدت ۱۰ دقیقه بود. از سویه *اشریشیاکلی* K12 به‌عنوان کنترل منفی استفاده گردید. محصول PCR در ژل آگارز ۱/۵٪ الکتروفورز گردید. برای شناسایی ساب‌کلون‌های ST131 (H30 and H30-RX131) از روشی بر پایه PCR استفاده شد.[۱۵]

از SPSS software, version 21 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) برای آنالیز نتایج به‌دست‌آمده استفاده شد. آزمون‌های آماری مورد استفاده جهت آنالیز داده‌ها، آنالیز تک‌متغیره با استفاده از Pearson's chi-squared test بود. همچنین Adds ratio با استفاده از Logistic regression analysis محاسبه گردید و P<۰/۰۵ از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

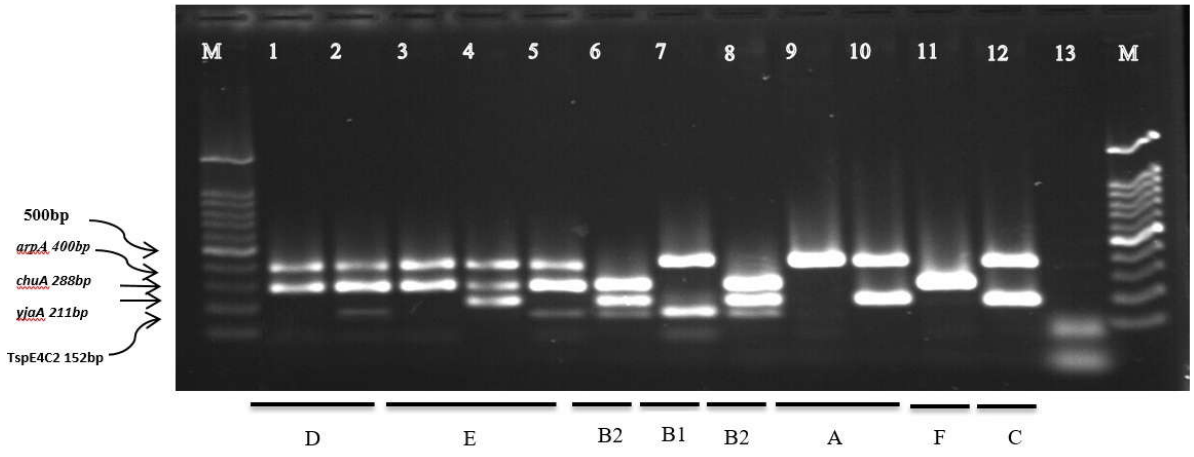
یافته‌ها

با استفاده از روش Quadruplex PCR، ایزوله‌های *اشریشیاکلی* کلونیزه و بالینی در هفت گروه فیلوژنیکی گروه‌بندی شدند (شکل ۱).

با توجه به اینکه گروه A با C و گروه D با E در بعضی موارد الگوی باند مشابهی داشتند، یک آزمایش PCR مختص گروه C و E گذاشته شد. به‌طوری‌که پنج ایزوله با الگوی مشابه گروه D و E، در گروه E و سه ایزوله با الگوی مشابه با گروه A و C، در گروه C قرار گرفت. جدول ۳، چگونگی توزیع گروه‌های فیلوژنیک بین دو گروه ایزوله‌های *اشریشیاکلی* کلونیزه مقاوم به سیپروفلوکساسین و ایزوله‌های بالینی را نشان می‌دهد.

در بین ایزوله‌های کلونیزه، بیشترین گروه فیلوژنیک مربوط به گروه B2 (۷۰٪) و کمترین آن مربوط به گروه F (۱/۱۲٪) بود، همچنین در بین ایزوله‌های بالینی نیز گروه B2 توزیع بالایی داشت (۷۵٪). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز داده‌ها، باوجود توزیع بالای گروه B2 در دو گروه ایزوله‌های کلونیزه و بالینی، تفاوتی در شیوع آن در بین دو گروه مشاهده نشد (به‌ترتیب ۳۶ از ۵۴ (۶۶٪) در مقابل ۱۳ از ۱۶ (۸۱٪)، P=۰/۲۹).

برای ایزوله‌های متعلق به گروه B2، وضعیت ST131 توسط روش SNP-PCR با توجه به پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی در ژن‌های gyrB و mdh مشخص گردید. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، شیوع ST131 در بین ایزوله‌های بالینی و کلونیزه بالا بود. به‌طوری‌که ۵۴٪ ایزوله‌های کلونیزه و ۸۱٪ ایزوله‌های بالینی دارای سکانس ۱۳۱ بودند (جدول ۳).



شکل ۱: نمونه‌ای از الکتروفورز ژل آگارز ۲٪ جهت نمایش الگوی Quadruplex PCR، روش جدید گروه‌بندی کلرمونت

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 7:20 IRST on Monday December 24th 2018

جدول ۳: توزیع فیلوژنیکی ایزوله‌های *اشریشیاکلی* کلونیزه و بالینی

گروه فیلوژنیکی یا نوع توالی	تعداد ٥٤ نفر (٪ کلونیزه)	تعداد ١٦ نفر (٪ بالینی)
A	٦ (١١/١)	١ (٦/٢)
B1	٢ (٣/٧)	٠
B2	٣٦ (٦٦/٦)	١٣ (٨١/٣)
E	٥ (٩/٢)	٠
F	١ (١/٩)	٠
C	١ (١/٩)	٢ (١٢/٥)
D	٣	٠
ST131	٢٩ (٥٣/٧)	١٣ (٨١/٣)

جدول ٤: الگوی حساسیت ضد میکروبی سویه‌های بالینی و کلونیزه مقاوم به سیپروفلوکساسین جدا شده از بیماران تحت بیوپسی پروستات به‌روش E-test

آنتی‌بیوتیک	ایزوله‌های رکتال تعداد: ٧٠ (درصد)	ایزوله‌های بالینی تعداد: ١٧ (درصد)
آمپی‌سیلین	٠	٠
لووفلوکساسین	٠	(٥/٩)١
کوتریموکسازول	(٢٠)١٤	(١٧/٦)٣
آموکسی‌سیلین-کلاوولانیک اسید	(٤٢/٩)٣٠	(٢٣/٥)٤
سفازولین	(٤٧/١)٣٣	(٤١/٢)٧
سفتازیدیم	(٥٧/١)٤٠	(٥٢/٩)٩
سفپیم	(٦٥/٧)٤٦	(٦٤/٧)١١
جنتامایسین	(٧٧/١)٥٤	(٦٤/٧)١١
پیپراسیلین-تازوباکتام	(٨٥/٢)٦٠	(٨٢/٤)١٤
نیتروفورانتوئین	(٩٢/٩)٦٥	(٩٤/١)١٦
آمیکاسین	(٩٢/٩)٦٥	(١٠٠)١٧
فسفومایسین	(٩٥/٧)٦٧	(١٠٠)١٧
ایمی‌پنم	(١٠٠)٧٠	(١٠٠)١٧
آمپی‌سیلین	٠	٠

اما باوجود افزایش عفونت در میان بیماران کلونیزه با سویه E. coli ST131، تفاوت کمابیش معناداری در شیوع آن در بین دو گروه مشاهده شد [OR: 3.269, 95% CI:0.942-11.448; P= 0.06]. به‌طورکلی همه ایزوله‌های E. coli ST131، ساب‌کلون H30ST131 را نشان دادند و تفاوتی در شیوع ساب‌کلون H30-RX ST131 در بین ایزوله‌های کلونیزه و بالینی مشاهده نشد (به‌ترتیب چهار از ٢٩ (١٤٪) در مقابل چهار از ١١٣ (٣١٪)، P=٠/٢٤).

الگوی مقاومت ضد میکروبی E. coli FQ-R جدا شده از رکتوم و بالینی در جدول ٤ ارایه شده است. کمابیش همه E. coli FQ-R در هر دو نوع گروه، Minimum inhibitory concentration (MIC) بالای ٣٢ را به سیپروفلوکساسین نشان دادند. اگر چه مقاومت بالای ایزوله‌های رکتال به آمپی‌سیلین (١٠٠٪)، کوتریموکسازول (٨٠٪) و آموکسی‌سیلین-کلاوولانیک اسید (٥٧٪) مشاهده شد، مقاومت به آمیکاسین (٧٪)، فسفومایسین (٥/٥٪) و ایمی‌پنم (٠٪) در سطوح بسیار پایین باقی ماند. الگوی حساسیت ضد میکروبی ایزوله‌های بالینی به‌طور تقریبی با ایزوله‌هایی که از رکتوم جدا شده‌اند یکسان بودند (جدول ٤). به‌طور کلی، بیشتر ایزوله‌های *اشریشیاکلی* مقاوم به چندین آنتی‌بیوتیک در گروه B2 و با ژنوتایپ ST131 تشخیص داده شد.

بحث

برخی از مطالعات گزارش کرده‌اند که گروه B2 بیشترین گروه فیلوژنیکی را در بین ایزوله‌های *اشریشیاکلی* به خود اختصاص می‌دهد.[١٣و١٦و١٧] این در حالی است که در مطالعه‌ای در پاکستان که روی *اشریشیاکلی* جدا شده از زخم صورت گرفته، بیشترین گروه متعلق به گروه فیلوژنیکی A و سپس B2 بود.[١٨] در ایران Alizade و همکاران، بر روی *اشریشیاکلی* جدا شده از اسهال و UTI مطالعه‌ای انجام دادند که بر اساس آن بیشترین گروه فیلوژنیکی متعلق به گروه A و کمترین متعلق به گروه B2 بود.[١٩] در پژوهش کنونی، ٨١٪ ایزوله‌های بالینی متعلق به گروه B2 و کمترین مربوط به گروه A بود، همچنین از نظر میزان شیوع، با مطالعه Etebarzadeh و همکاران که بر حسب مکان مطالعه در شهر تهران صورت گرفته همخوانی داشت.[١٧] Williamson و همکاران و Liss و همکاران، مطالعاتی در مورد گروه‌بندی ایزوله‌های *اشریشیاکلی* کلونیزه مقاوم به سیپروفلوکساسین در افراد تحت بیوپسی پروستات انجام دادند. بر اساس یافته‌های این پژوهشگران، بیشترین گروه فیلوژنیکی متعلق به گروه B2 و سپس گروه D و کمترین گروه مربوط به B1 بود.[١١و٢٠] پژوهش کنونی با توجه به روش جدید

www.SID.ir

Archive of

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 7:20 IRST on Monday December 24th 2018

کلرمونت، نتایج مطالعات بالا را تایید کرد با این تفاوت که گروه A بیشترین گروه فیلوژنیکی را پس از گروه B2 به خود اختصاص داد و کمترین گروه فیلوژنیکی متعلق به گروه F بود. این تفاوت‌ها در توزیع گروه فیلوژنتیک در میان گونه‌های جمعیت متمایز جغرافیایی در مطالعات مختلف ممکن است به‌دلیل وضعیت سلامت میزبان، شرایط آب و هوایی جغرافیایی، عوامل تغذیه‌ای، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، عوامل ژنتیکی میزبان و تفاوت‌های ناشی از نمونه‌برداری از مناطق مختلف باشد.

یکی از پاتوژن‌های نوظهور که بیشتر اعضای آن مقاوم به فلوروکینولون و چند آنتی‌بیوتیک دیگر می‌باشند، E. coli ST131 است.[9] مطالعات متعددی روی شیوع ST131 در کشورهای مختلف انجام شده است. Williamson و همکاران، شیوع ST131 را در ایزوله‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین، ٤٢٪ گزارش کردند. به‌طوری‌که شیوع آن در عفونت‌های پس از بیوپسی پروستات بیشتر از عفونت‌های دیگر بود.[11و13] Liss و همکاران در دو مطالعه متفاوت نشان دادند که ٧٠٪ *اشریشیاکلی* کلونیزه مقاوم به فلوروکینولون دارای سکانس ١٣١ هستند. این دو مطالعه نشان داد که بیشتر عفونت‌های پس از بیوپسی پروستات در بیماران کلونیزه با *اشریشیاکلی* مقاوم به فلوروکینولون با سکانس ١٣١ اتفاق می‌افتد.[20و21] پژوهش کنونی، یافته‌های Liss و همکاران را تایید کرد، به‌طوری‌که ٥٤٪ ایزوله‌های کلونیزه مقاوم به فلوروکینولون و ٨١٪ عفونت‌های پس از بیوپسی پروستات دارای سکانس ١٣١ بودند. در مطالعه کنونی، باوجود افزایش میزان عفونت در بین بیماران کلونیزه با ایزوله‌های *اشریشیاکلی* مقاوم به فلوروکینولون با سکانس ١٣١، تفاوت کمابیش معناداری در شیوع آن در بین دو گروه مشاهده شد. در مطالعات دیگر، میزان شیوع ST131، بیشتر در ایزوله‌های بالینی (عفونی) مقاوم به فلوروکینولون گزارش شده است. به‌طوری‌که ٥٠٪ در انگلستان، ٣٥٪ در استرالیا، ٣٣-٢٥٪ در ژاپن و کره و در یک مطالعه‌ای که روی افراد سفر کرده به کشورهای پاکستان و هندوستان صورت گرفته، ٦١٪ گزارش شده است.

در مجموع پاتوژن ST131 شیوع بالایی را در کلونیزاسیون رکتال و عفونت‌های پس از بیوپسی پروستات داشت که مقاومت گسترده‌ای به آنتی‌بیوتیک‌های رایج را نشان داد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل پایان‌نامه دکتری باکتری‌شناسی پزشکی با عنوان "تعیین کلون‌های شایع‌ترین باکتری روده‌ای مقاوم به فلوروکینولون و عفونت‌های ناشی از آن در بیماران تحت بیوپسی پروستات مشکوک به سرطان پروستات" در سال ١٣٩٥ و طرح تحقیقاتی به کد ٢٨٨٤٨ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی تهران اجرا شده است.

References

1. Loeb S, Carter HB, Berndt SI, Ricker W, Schaeffer EM. Complications after prostate biopsy: data from SEER-Medicare. *J Urol* 2011;186(5):1830-4.
2. Feliciano J, Teper E, Ferrandino M, Macchia RJ, Blank W, Grunberger I, et al. The incidence of fluoroquinolone resistant infections after prostate biopsy: are fluoroquinolones still effective prophylaxis? *J Urol* 2008;179(3):952-5; discussion 955.
3. Liss MA, Chang A, Santos R, Nakama-Peeples A, Peterson EM, Osann K, et al. Prevalence and significance of fluoroquinolone resistant Escherichia coli in patients undergoing transrectal ultrasound guided prostate needle biopsy. *J Urol* 2011;185(4):1283-8.
4. Steensels D, Slabbaert K, De Wever L, Vermeersch P, Van Poppel H, Verhaegen J. Fluoroquinolone-resistant E. coli in intestinal flora of patients undergoing transrectal ultrasound-guided prostate biopsy--should we reassess our practices for antibiotic prophylaxis? *Clin Microbiol Infect* 2012;18(6):575-81.
5. Taylor S, Margolick J, Abughosh Z, Goldenberg SL, Lange D, Bowie WR, et al. Ciprofloxacin resistance in the faecal carriage of patients undergoing transrectal ultrasound guided prostate biopsy. *BJU Int* 2013;111(6):946-53.
6. Tsu JH, Ma WK, Chan WK, Lam BH, To KC, To WK, et al. Prevalence and predictive factors of harboring fluoroquinolone-resistant and extended-spectrum β-lactamase-producing rectal flora in Hong Kong Chinese men undergoing transrectal ultrasound-guided prostate biopsy. *Urology* 2015;85(1):15-21.
7. Williamson DA, Barrett LK, Rogers BA, Freeman JT, Hadway P, Paterson DL. Infectious complications following transrectal ultrasound-guided prostate biopsy: new challenges in the era of multidrug-resistant Escherichia coli. *Clin Infect Dis* 2013;57(2):267-74.
8. Hasanzadeh A, Pourmand MR, Alizadeh A, Pourmand G. Prevalence and significance of fluoroquinolone-resistant bacteria carriage in patients undergoing transrectal ultrasound prostate biopsy. *Urol J* 2017;14(3):3085-3090.
9. Rogers BA, Sidjabat HE, Paterson DL. Escherichia coli O25b-ST131: a pandemic, multiresistant, community-associated strain. *J Antimicrob Chemother* 2011;66(1):1-14.
10. Johnson JR, Johnston B, Clabots C, Kuskowski MA, Castanheira M. Escherichia coli sequence type ST131 as the major cause of serious multidrug-resistant E. coli infections in the United States. *Clin Infect Dis* 2010;51(3):286-94.
11. Williamson DA, Freeman JT, Porter S, Roberts S, Wiles S, Paterson DL, et al. Clinical and molecular correlates of virulence in Escherichia coli causing bloodstream infection following transrectal ultrasound-guided (TRUS) prostate biopsy. *J Antimicrob Chemother* 2013;68(12):2898-906.

www.SID.ir

Archive of

12. Assimacopoulos A, Johnston B, Clabots C, Johnson JR. Post-prostate biopsy infection with Escherichia coli ST131 leading to epididymo-orchitis and meningitis caused by Gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol* 2012;50(12):4157-9.
13. Williamson DA, Roberts SA, Paterson DL, Sidjabat H, Silvey A, Masters J, et al. Escherichia coli bloodstream infection after transrectal ultrasound-guided prostate biopsy: implications of fluoroquinolone-resistant sequence type 131 as a major causative pathogen. *Clin Infect Dis* 2012;54(10):1406-12.
14. 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(1):58-65.
15. Banerjee R, Robicsek A, Kuskowski MA, Porter S, Johnston BD, Sokurenko E, et al. Molecular epidemiology of Escherichia coli sequence type 131 and Its H30 and H30-Rx subclones among extended-spectrum-β-lactamase-positive and -negative E. coli clinical isolates from the Chicago Region, 2007 to 2010. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57(12):6385-8.
16. 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 Int* 2015:e846219.
17. Etebarzadeh Z, Oshaghi M, Mozafari NA. Evaluation of relationship between phylogenetic typing and antibiotic resistance of uropathogenic Escherichia coli. *J Microb World* 2012;4(3-4):84-92. [Persian]
18. Bashir S, Sarwar Y, Ali A, Mohsin M, Saeed MA, Tariq A, et al. Multiple drug resistance patterns in various phylogenetic groups of uropathogenic E.coli isolated from Faisalabad region of Pakistan. *Braz J Microbiol* 2011;42(4):1278-83.
19. Alizade H, Ghanbarpour R, Aflatoonian MR. Virulence genotyping of Escherichia coli isolates from diarrheic and urinary tract infections in relation to phylogeny in southeast of Iran. *Trop Biomed* 2014;31(1):174-82.
20. Liss MA, Johnson JR, Porter SB, Johnston B, Clabots C, Gillis K. Clinical and microbiological determinants of infection after transrectal prostate biopsy. *Clin Infect Dis* 2015;60(7):979-87.
21. Liss MA, Peterson EM, Johnston B, Osann K, Johnson JR. Prevalence of ST131 among fluoroquinolone-resistant Escherichia coli obtained from rectal swabs before transrectal prostate biopsy. *Urology* 2013;81(3):548-55.

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 7:20 IRST on Monday December 24th 2018

www.SID.ir

Archive of SID

TUMJ Tehran University Medical Journal, December 2018; Vol. 76, No. 9: 629-636 Original Article

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 7:20 IRST on Monday December 24th 2018

Molecular typing of fluoroquinolone resistant Escherichia coli isolates from patients undergoing prostate biopsy

Amir Hasanzadeh Ph.D.[1,2]
Mohammad Reza Pourmand Ph.D.[2*]
Shahram Gooran M.D.[3]
Hasan Hosainzadegan Ph.D.[1]
Asghar Tanomand Ph.D.[1]
Gholamreza Pourmand M.D.[3]

1- Department of Microbiology, Maragheh University of Medical Sciences, Maragheh, Iran.
2- Department of Pathobiology, School of Public Health and Biotechnology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Urology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[*] Corresponding author: Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Poursina St., Qods St., Keshavarz Blvd., Tehran, Iran.
Tel: +98 21 88954910
E-mail: mpourmand@tums.ac.ir

Abstract

Received: 13 Jul. 2018 Revised: 20 Jul. 2018 Accepted: 16 Dec. 2018 Available online: 26 Dec. 2018

Background: *Escherichia coli* (*E. coli*) is one of the most important infectious agents in patients undergoing prostate biopsy. It belongs to a large family of gram-negative rods, Enterobacteriaceae. This family includes members of the normal flora of the intestine that are only occasionally pathogenic. Recent considerations of rectal colonization with fluoroquinolone-resistant *E. coli* shows the need to change strategy of treatment of infection in patients undergoing prostate biopsy. Therefore, the purpose of this study was to determine molecular typing of fluoroquinolone resistant (FQR) *E. coli* rectal isolates and associated infections in patients undergoing prostate biopsy.

Methods: In this prospective cohort study, rectal swabs were collected from 158 male patients before prostate biopsy at the Urology Research Center of Sina Hospital, Tehran, Iran, from March 2015 to February 2016. The FQR organisms were isolated using selective media, and antibiotic susceptibility pattern was determined for following antibiotics, ampicillin, levofloxacin, cotrimoxazole, amoxicillin-clavulanate, cefazolin, ceftazidime, cefepime, gentamicin, piperacillin-tazobactam, nitrofurantoin, amikacin, fosfomycin, imipenem. In general, phylogenetic background, prevalence of *E. coli* sequence type 131 (ST131) and its subclones (H30 and H30-Rx ST131) were compared in two groups of FQR *E. coli* rectal colonization and clinical isolates.

Results: In total, 73 patients had a positive rectal culture for FQR gram-negative bacteria, the most prevalent isolate of which was *E. coli*. Phylogenetic group B2 was most predominant, followed by A, E, C and D, B1 and F. The antibiotic susceptibility patterns for the FQR organisms showed high levels of resistance to ampicillin and trimethoprim-sulfamethoxazole, while the resistance to amikacin, fosfomycin and imipenem remained very low. In general, antibiotic resistance to several antibiotic was mainly detected in group B2 and with ST131 genotype. Despite the increase in infections among patients colonized with strains of *E. coli* ST131, its frequency was almost statistically significant between colonized and infected groups.

Conclusion: The ST131 pathogen has a high prevalence in rectal colonization and post prostate biopsy infections, which showed widespread resistance to common antibiotics.

Keywords: biopsy, drug resistance, *Escherichia coli*, infection, prostate.

www.SID.ir